

**T.C.
SÜLEYMAN DEMİREL ÜNİVERSİTESİ
TIP FAKÜLTESİ**

**RATLARDA PARASETAMOLE BAĞLI AKUT KARACİĞER
TOKSİSİTESİNDE NAR SUYUNUN KORUYUCU ETKİSİ**

Dr. Duygu ÇALIŞKAN

**ÇOCUK SAĞLIĞI VE HASTALIKLARI ANABİLİM DALI
UZMANLIK TEZİ**

TEZ DANIŞMANI

Prof. Dr. Mustafa AKÇAM

**Bu tez Süleyman Demirel Üniversitesi Bilimsel Araştırma ve Projeleri Birimi
Fonu tarafından 3208-TU2-12 Proje numarası ile desteklenmiştir.**

2014-İSPARTA

ÖNSÖZ

Çocuk Sağlığı ve Hastalıkları Uzmanı olarak yetişmemde büyük emeği geçen değerli hocalarım Prof. Dr. Ahmet Rifat ÖRMECİ, Prof. Dr. Ali AYATA, Prof. Dr. Mustafa AKÇAM, Prof. Dr. Metehan ÖZEN, Doç Dr Hasan ÇETİN, Doç. Dr. Özgür PİRGON, Yrd. Doç. Dr. Ayça Esra KUYBULU, Yrd. Doç. Dr Gonca SANDAL ve bu tezin oluşturulmasında beni başından sonuna kadar yönlendiren, her konuda yardım ve bilgilerini esirgemedi, bilimsel çalışmanın gereklerini öğreten değerli tez hocam Prof. Dr. Mustafa AKÇAM'a şükranlarımı sunarım.

Başta tez çalışmamda büyük destek gördüğüm Biyokimya A.B.D öğretim üyesi Duygu KUMBUL DOĞUÇ, Arş. Gör Dr.Birsen HARUN DAĞDEVİREN olmak üzere biyokimya laboratuvarı asistanları ve çalışanlarına teşekkürlerimi sunarım.

Yardımlarından ve katkısından dolayı başta Histoloji A.B.D öğretim üyesi Prof. Dr. Meral ÖNCÜ, Arş. Gör. Meltem ÖZGÖÇMEN olmak üzere histoloji laboratuvarı asistanları ve çalışanlarına teşekkürlerimi sunarım.

Uzmanlık eğitimim süresince birlikte olmaktan keyif aldığım bütün klinik arkadaşlarıma, klinik hemşire ve personeline, eğitimim süresince her zaman en büyük desteği gördüğüm sevgili eşime, hayat ışığım, kızım Arya'ma ve aileme, en içten teşekkürlerimi sunarım.

Dr. Duygu ÇALIŞKAN

İÇİNDEKİLER

| | |
|--|-------------|
| ÖNSÖZ | ii |
| İÇİNDEKİLER | iii |
| SİMGELER ve KISALTMALAR | v |
| TABLolar DİZİNİ | vii |
| ŞEKİLLER DİZİNİ | viii |
| RESİMLER DİZİNİ | ix |
| 1. GİRİŞ | 1 |
| 2. GENEL BİLGİLER | 3 |
| 2.1. İlaçlar ve Karaciğer Hasarı..... | 3 |
| 2.1.1. İİKH Açısından Risk Faktörleri..... | 3 |
| 2.1.2. İİKH Patofizyolojisi ve Mekanizması..... | 4 |
| 2.1.3. İlaç Metabolizması..... | 5 |
| 2.1.4. İİKH'nın Klinik ve Patolojik Özellikleri | 6 |
| 2.1.5. İİKH'de Tanı..... | 9 |
| 2.1.6. İİKH'de Tedavi | 10 |
| 2.2. Parasetamol | 11 |
| 2.2.1. Parasetamolün Tarihçesi | 11 |
| 2.2.2. Parasetamolün Yapısı ve Özellikleri..... | 11 |
| 2.3. Parasetamolün Farmakokinetiği ve Toksisitesi..... | 12 |
| 2.3.1. Parasetamolün Etki Mekanizması..... | 12 |
| 2.3.2. Parasetamolün Metabolizması | 13 |
| 2.3.3. Parasetamol Toksisitesi..... | 14 |
| 2.4. Serbest Radikaller | 19 |
| 2.4.1. Süperoksit Radikali (O_2^-)..... | 20 |
| 2.4.2. Hidrojen Peroksit | 20 |
| 2.4.3. Hidroksil Radikali | 20 |
| 2.4.4. Singlet Oksijen | 21 |
| 2.4.5. Serbest Oksijen Radikal Kaynakları | 21 |
| 2.4.6. Organizmada Serbest Radikal Reaksiyonlarını Artıran Faktörler | 21 |
| 2.4.7. Serbest Radikallerin Etkileri | 21 |
| 2.4.7.1. Serbest Radikallerin Membran Lipidlerine Etkileri..... | 21 |
| 2.4.7.2. Serbest Radikallerin Proteinler Üzerine Etkileri..... | 23 |

| | |
|---|-----------|
| 2.4.7.3. Serbest Radikallerin Karbonhidratlar Üzerine Etkileri..... | 23 |
| 2.4.7.4. Serbest Radikallerin Nükleik Asitler ve DNA'ya Etkileri..... | 23 |
| 2.4.8. Antioksidan Savunma Sistemleri..... | 23 |
| 2.4.8.1. Endojen Antioksidanlar..... | 23 |
| 2.4.8.1.1. Enzimatik Antioksidanlar..... | 24 |
| 2.4.8.1.2. Süperoksit Dismutaz (SOD)..... | 24 |
| 2.4.8.1.3. Glutasyon Redüktaz (GSH-Redüktaz)..... | 24 |
| 2.4.8.1.4. Glutasyon Peroksidaz (GSH-Px)..... | 25 |
| 2.4.8.1.5. Katalaz..... | 25 |
| 2.4.8.2. Enzimatik Olmayan Endojen Antioksidanlar..... | 26 |
| 2.4.8.2.1. Diğer Enzimatik Olmayan Endojen Ajanlar..... | 26 |
| 2.4.9. Eksojen Antioksidanlar..... | 26 |
| 2.5. Nar (<i>Punica Granatum</i>)..... | 26 |
| 3. GEREÇ ve YÖNTEM..... | 29 |
| 3.1. Gereç..... | 29 |
| 3.1.1. Deney Hayvanları..... | 29 |
| 3.1.2. Kullanılan Malzeme ve Aletler..... | 29 |
| 3.1.3. Nar Suyunun Hazırlanışı..... | 29 |
| 3.1.4. Deney Gruplarının Oluşturulması ve Deneyin Kurgusu..... | 30 |
| 3.2. Doku ve Kan Örneklerinin Alınması..... | 31 |
| 3.3. Karaciğer Dokusunun Homojenizasyonu..... | 31 |
| 3.4. Tiyobarbitürik Asit Reaktif Substans (TBARS) Ölçümü..... | 31 |
| 3.5. Histopatolojik Analiz Yöntemleri..... | 32 |
| 3.5.1. Doku Örneklerinin Değerlendirmesi..... | 33 |
| 3.6. İstatistiksel Analiz..... | 33 |
| 4. BULGULAR..... | 34 |
| 5. TARTIŞMA..... | 41 |
| SONUÇLAR..... | 47 |
| ÖZET..... | 48 |
| ABSTRACT..... | 49 |
| KAYNAKLAR..... | 50 |

SİMGELER ve KISALTMALAR

| | |
|-----------------------------------|---------------------------------------|
| ABD | : Amerika Birleşik Devletleri |
| ALP | : Alkalen fosfataz |
| ALT | : Alanin aminotransferaz |
| AMP | : Adenozin monofosfat |
| ANA | : Antinükleer antikor |
| ASMA | : Anti-düz kas antikoru |
| AST | : Aspartat aminotransferaz |
| ATP | : Adenozin trifosfat |
| CAT | : Katalaz |
| CCl₄ | : Karbon tetraklorür |
| COX | : Siklooksijenaz |
| DNA | : Deoksiribonükleik asit |
| FDA | : Food and Drug Administration |
| GSH | : Glutasyon |
| GSH-Px | : Glutasyon peroksidaz |
| Hb | : Hemoglobin |
| HIV | : İnsan immün yetmezlik virüsü |
| H₂O | : Su |
| H₂O₂ | : Hidrojen peroksit |
| İİKH | : İlacın indüklediği karaciğer hasarı |
| IL | : İnterlökin |
| IMP | : İnozin monofosfat |
| INH | : İzonyazid |
| LOOH | : Lipid hidroperoksit |
| MDA | : Malondialdehid |
| MDR | : Multidrug rezistans |
| ml | : Mililitre |
| MP | : Merkaptopurin |
| MTX | : Metotreksat |
| NAC | : N Asetil Sistein |

| | |
|--------------------------------|---|
| NAD | : Nikotinamid adenin dinükleotid |
| NADP | : Nikotinamid adenin dinükleotid fosfat |
| NAPQI | : N asetil p-benzoquinone imine |
| NSAİİ | : Nonsteroid antienflamatuvar ilaç |
| O⁻ | : Süperoksit radikali |
| OH⁻ | : Hidroksil radikali |
| PUFA | : Çoklu doymamış yağ asitleri |
| RNA | : Ribonükleik asit |
| ROT | : Reaktif oksijen türevleri |
| SF | : Serum fizyolojik |
| SOD | : Süperoksit dismutaz |
| TBARS | : Tiyobarbitürik asit reaktif substans |
| T.Bil. | : Total bilirubin |
| TCA | : Trikloroasetik asit |
| TNF-α | : Tümör nekrozis faktör- alfa |
| UDP | : Uridin di-fosfo-glukoz |

TABLULAR DİZİNİ

| | |
|---|----|
| Tablo 1. Parasetamol zehirlenmesinde belirti ve bulgular | 18 |
| Tablo 2. Grupların AST, ALT, T.Bilirubin, D.Bilirubin, GGT, ALP düzeyleri ve p değerleri..... | 35 |
| Tablo 3. Grupların kan, doku TBARS düzeyleri ve p değerleri..... | 36 |
| Tablo 4. Deneysel parametrelerin histolojik (yapısal) değerlendirme skorları ve p değerleri..... | 40 |

ŞEKİLLER DİZİNİ

| | |
|--|----|
| Şekil 1. Parasetamolün yapısı | 12 |
| Şekil 2. Parasetamol serum düzeyinin zamana bağlı değişimini gösteren eğrinin karaciğer hasarı ile ilişkisi | 17 |
| Şekil 3. Reaktif oksijen türevleri | 19 |
| Şekil 4. Serbest oksijen radikalleri kaynakları..... | 21 |

RESİMLER DİZİNİ

| | |
|---|----|
| Resim 1. Deney hayvanlarına gavajla oral nar suyu uygulaması | 30 |
| Resim 2. Parasetamol grubuna ait karaciğer kesiti. Bağ dokusu artışı (ince ok), infiltrasyon (kalın ok)..... | 37 |
| Resim 3. Parasetamol grubuna ait karaciğer kesiti. İnfiltrasyon (ok), nekroza giden hücre (kalın ok) | 38 |
| Resim 4. Parasetamol + nar suyu grubuna ait karaciğer kesiti. İnfiltrasyon (ok)..... | 39 |
| Resim 5. Nar suyu grubuna ait karaciğer kesiti. Santral ven (ok) | 39 |
| Resim 6. Kontrol grubuna ait karaciğer kesiti. Santral ven (ok) | 40 |

1. GİRİŞ

Zehir ve zehirlenme, insanların var oluşundan bu yana önemini yitirmemiş kavramlardır. İlk çağlardan beri insan sağlığının bozulmasında hastalıklar kadar, zehirlenmelerin de önemli rolü olmuştur. Ülkemizde her yıl 150.000–200.000 akut zehirlenme olgusuna rastlanmaktadır; bunların %58,6'sı ilaçlardan ileri gelmektedir.

1573'de ünlü hekim Paracelsus'un 'Her şey zehir olabilir, zehir olmayan bir şey yoktur, bir şeyi zehir yapan dozdur' sözleri günümüzde önemini yitirmemiştir (1,2).

Dünya'da çocukluk çağı zehirlenmelerinin önde gelen nedenlerinden biri olan parasetamol zehirlenmeleri, ülkemizde de önemini korumaktadır (3,4). Kaza sonucu olan zehirlenmelerin büyük bir kısmı ağız yolu ile gerçekleşir.

Parasetamol zehirlenmesinde erken tanı ve tedavi mortalite ve morbidite oranını önemli ölçüde düşürmektedir. Yaşamsal destek sağlandıktan sonra, ilk 1–2 saat içinde aktif kömür (1g/kg) uygulamasının yararlı olduğu bildirilmekle birlikte son yıllarda aksini bildiren yazılar da vardır (5-10).

Aşırı dozda parasetamol alınması durumlarında ortaya çıkan toksik belirtilere karşı, antidot olarak N-asetilsistein (NAC) kullanılmaktadır. NAC karaciğerde glutasyon sentezini artırarak toksik metabolitlerin (NAPQI) detoksifikasyonunu sağlamaktadır. Böbrek yetmezliğinde diüretik olarak furosemid kullanılabilir. Oral yoldan metionin ve sisteamin'de bazı kliniklerde kullanılmaktadır (5-9,11-17). Hemoperfüzyon ve karaciğer transplantasyonu ciddi vakalarda tedavide düşünülmelidir.

Parasetamolle elde edilen deneysel karaciğer hasarında ağaç minelerinden elde edilen lantadine A, *Clitoria ternatea*, karahindiba (*Taraxacum officinale*), *Clausena dentata* (Willd.), *Phyllanthus acidus*, *Telfairia occidentalis* gibi bitkilerin koruyucu etkileri olduğu saptanmıştır (18-23).

Ancak bu çalışmalarda, karaciğer hasarlanmasını önlemek amacıyla kullanılan tüm bitkisel maddelerin gereç ve yöntem zorlukları olduğu gibi kullanımları da pratik değildir. Nar suyu, ise yaygın bulunan, ucuz bir meyveden

kolayca elde edilmesi, tat ve renk açısından çocuk hasta grubunun tüketimine uygun olması gibi tercih sebepleriyle öne çıkmaktadır.

Halk arasında da şifalı olarak bilinen narın bugüne kadar çeşitli parçalarından elde edilen öz ve içeriklerle yapılan çalışmalarla antidiyareik (24), antifungal (25), antiülser (26) antitümöral (27), antibakteriyal (28), etkileri rapor edilmiştir. Ayrıca, nar potansiyel antioksidan etkisinden dolayı gitgide önem kazanmaktadır. Nar suyundan bazı etkili antioksidan maddeler izole edilmiş, oksidatif strese karşı etkisi kanıtlanmıştır (29,30)

Daha önce CCl₄, ferrik nitritriasetat (Fe-NTA), trikloroasetikasit (TCA), doksorobisin gibi maddelerle oluşturulan deneysel karaciğer hasarında nardan elde edilen maddelerin koruyucu etkisi olduğu kanıtlanmıştır (31,32,33,34). Fakat literatürde parasetamol toksisitesini önlemek amacıyla nar suyu kullanımına rastlayamadık.

Çalışmamızda; ratlarda parasetamole bağlı akut karaciğer toksisitesinde nar suyunun koruyucu rolünü araştırmayı amaçladık.

2. GENEL BİLGİLER

2.1. İlaçlar ve Karaciğer Hasarı

İlaç kullanımı karaciğer hasarının önemli nedenlerindedir. Literatürde 900'den fazla ilaç, toksin ve bitkinin karaciğer hasarı yaptığı raporlanmıştır. İlaçlar fulminan karaciğer yetmezliğinin % 20-40 oranında nedenidir. İlacın indüklediği karaciğer hasarı (İİKH), ilacın kesilmesi için en yaygın nedenlerdendir (35). Bu nedenle klinisyenler İİKH konusunda uyanık olmalıdır. Kullanılan ilacın erken kesilmesi karaciğer hasarlanmasını azaltıp hatta geri dönüşlü hale getirebilir. İlacın indüklediği karaciğer hasarı asemptomatik karaciğer enzim yüksekliğinden, fulminan karaciğer yetmezliğine kadar değişen klinik tablolarla karşımıza çıkabilir (36). Amerika Birleşik Devletleri (ABD)'de yılda yaklaşık 2000 akut karaciğer yetmezliği vakası bildirilmekte olup, bunun % 50 kadarı İİKH nedeniyle olmaktadır. Bunların da % 39'u parasetamol, % 13'ü diğer ilaçlara bağlı gelişmektedir. Sarılık nedeniyle hastaneye yatan hastaların % 2-5'inde, akut hepatit nedeniyle yatanların ise % 10 kadarında etyolojik neden ilaç kullanımıdır (37). Son birkaç yıl içinde Gıda ve İlaç İdaresi (FDA) tarafından bromfenac (NSAİİ), troglitazone (antidiyabetik), pemolin (dikkat eksikliği, narkolepsi) hepatotoksisite yapmaları nedeniyle yasaklanmıştır. Propiltiourasilin ise kullanımı belirgin ölçüde kısıtlanmıştır (38).

2.1.1. İİKH Açısından Risk Faktörleri

1. Etnik köken: İspanyollarda ve siyahlarda izoniazid daha toksik etkiye sahiptir.

2. Yaş: Hepatik ilaç reaksiyonları çocuklarda nadirdir (39).

3. Cinsiyet: Dişi cinsiyet.

4. Alkol alımı: Alkol kullanımı hepatoprotektif olduğu bilinen glutatyon düzeyinde düşmeye, ilaç metabolizmasında değişikliğe neden olarak toksisitede artışa neden olur (40).

5. Karaciğer hastalığı: Genel anlamda kronik karaciğer hastalığı olan hastalar, ilaç toksisitesine daha yatkındır şeklinde bir kaide yoktur. Toplam sitokrom P450 sayısının azalmasına rağmen aktivitesi iyi olabilir. Karaciğer hastalığına özgün,

doz ayarlaması yapılarak ilaçlar kullanılabilir (41). Hepatit B veya C virüsü ile koenfekte olan HIV'li hastalarda antiretroviral tedavi hepatotoksisite açısından artmış risk demektir. Benzer şekilde sirozu olan hastalar ilaç nedeniyle dekompanze olma riski taşırlar (40).

6. Genetik faktörler: Sitokrom P450 enzim sistemindeki genetik farklılıklar idiosenkreatik ilaç reaksiyonlarına neden olurlar.

7. Diğer eşlik eden durumlar: AIDS'li hastalar, malnütrisyon, diyet yapanlar, düşük glutatyon rezervleri nedeniyle hepatotoksisiteye yatkındırlar.

8. İlaç formülasyonu: Uzun etkili ilaçlar, kısa etkili ilaçlardan daha fazla hepatotoksisite yaparlar (40).

2.1.2. İİKH Patofizyolojisi ve Mekanizması

1. Patofizyolojik mekanizmalar: İlaç hepatotoksisitesiyle ilgili patofizyolojik mekanizmalar halen araştırılmaktadır. Aşağıda bazı mekanizmalar sıralanmıştır.

A. Hepatositlerin parçalanması: İlacın hepatositlerde intrasellüler proteinlere kovalent bağla bağlanması hücre içi ATP miktarında azalmaya bu da aktin fibrillerinde parçalanmaya neden olur. Parçalanmış aktin fibrilleri hepatosit yüzeyinde birikip blep oluşmasına ve hepatosit membranında parçalanmaya neden olur (39).

B. Transport proteinlerinde bozulma: İlaç; safra kanaliküler membranındaki transport proteinlerini etkileyerek safra akışını durdurabilir. Villöz yapının kaybı ve çoklu ilaç direnci ile ilişkili protein 3 gibi transport pompasının kaybı, bilirubin ekskresyonuna engel olarak kolestaza neden olur.

C. Sitolitik T hücresi aktivasyonu: İlacın P450 enzimine kovalent bağla bağlanması enzimin immünojen özellik kazanmasına, T hücrelerinin aktifleşmesine ve sitokin salınımına yol açarak çok yönlü immün yanıtı neden olur.

D. Hepatositlerde apoptozis oluşumu: Fas reseptörü (FasR, CD95, Apo-1 ve TNF superfamily member 6 (TNFRSF6 olarak ta bilinir) tarafından apoptozisin indüklenmesi programlanmış hücre ölümüne neden olur.

E. Mitokondriyal bozulma: İlaç, nikotinamid adenin dinükleotid ve flavin adenin dinükleotid sentezini engeller ve beta oksidasyon önleyerek ATP sentezini durdurur (39).

F. Safra kanalı hasarı: Toksik metabolitlerin safraya salınımı safra kanalı epitelinde hasarlanmaya neden olur (40).

2. İlaç toksisite mekanizmaları: Klasik olarak ilaç reaksiyonları iki major gruba ayrılır. İlaç karaciğeri doğrudan veya immun değişikliğe neden olarak etkiler (41).

A. Tahmin edilebilir (intrensek) ilaç reaksiyonları: Bu gruba giren ilaçların toksik etkileri geri döndürülebilir ve doza bağımlıdır. Hasar ilacın kendisine veya metabolitine bağlı olarak gelişir. Parasetamol ve karbontetraklorür bu grubun klasik ilaçlarıdır (42).

B. İdiosenkratik ilaç reaksiyonları: Bu gruba giren ilaç reaksiyonları iki şekilde karşımıza çıkar. Hipersensitivite-immünoallerjik veya metabolik-idiosenkratik olarak görülür (43,44). Hipersensitivite reaksiyonları tipik olarak ateş, eozinofili, döküntü ile karakterizedir ve 1-4 haftalık latent periyod sonrasında gelişir. Klasik örnek fenitoin dir (45). Metabolik-idiosenkratik tip uygulanan ilacın metaboliti nedeniyle gelişir. İntrensek hepatotoksisitenin aksine yanıt oranı değişkendir ve bir hafta ile bir yıl arasında ortaya çıkar. Hastaların azında ortaya çıkar ve hipersensitivite lehine hiç kanıt yoktur. İzoniazid toksisitesi bu gruba girmektedir (46).

2.1.3. İlaç Metabolizması

Karaciğer vücuda giren tüm ilaç ve toksinlerin metabolize edildiği organdır. Çoğu ilaç yağda çözünür (lipofilik) ve bu sayede hücre membranından kolaylıkla geçebilir. İlaçlar vücutta inaktivasyon ve kolay ekskresyon için hidrofilik forma dönüştürülürler. İlaç metabolizması iki fazda meydana gelir (47). Faz 1 ile ilaç hidroksilasyon ve oksidasyon sonucu polar bileşik haline dönüşür. Faz 2 reaksiyonu karaciğerde veya karaciğer dışında meydana gelir. İlaçlar çözünebilirliği artmış konjuge ürünlere dönüşür (asetat, aminoasit, sülfat, glutatyon, glukronidasyon) (48). Sıklıkla yüksek molekül ağırlıklı ilaçlar karaciğerden, düşük molekül ağırlıklılar ise

böbrekten ekskresyona uğrar. Faz 1 reaksiyonlarını sitokrom P450 enzimleri katalizler. Bu reaksiyonlar sonucu oluşan ara ürünler oldukça reaktiftir ve karaciğer hasarından sıklıkla bu ürünler sorumludur. Sitokrom P450 enzimleri karaciğerde düz endoplazmik retikulumda lokalize hemoproteinlerdir. En az 50 çeşit enzim tanımlanmıştır. Bunlar 10 kategoriye ayrılır, grup 1, 2, 3 ilaç metabolizmasında rol oynar. Her P450 enzimi pek çok ilacı metabolize eder. Spesifik P450 enzimini kullanan farklı ilaçlar birbirleriyle yarışmaya girer ve birbirlerinin metabolizmasını önlerler. Bazı ilaçlar P-450 enzimlerini önler veya uyarır (49-51).

2.1.4. İİKH'nın Klinik ve Patolojik Özellikleri

İİKH'na bağlı klinik gösterge ve semptomlar altta yatan patolojik hasarlanmanın şekline göre değişir.

Klinik özellikler: İİKH klinik olarak çok farklı şekillerde karşımıza çıkar. Klinik asemptomatik karaciğer enzim yüksekliğinden fulminan karaciğer yetmezliğine kadar değişir. Hepatosellüler hasar kendini aminotransferaz yüksekliği dominant bulgu olacak şekilde gösterir (36). Kolestatik hasarda ise alkalen fosfataz (ALP) yüksekliği (bilirubin yüksekliğiyle beraber veya değil) önde gelen bulgudur.

Asemptomatik aminotransferaz yüksekliği: Bazı ilaçlar ilaç kullanımına devam edilmesine rağmen ilerleme göstermeden sadece asemptomatik aminotransferaz yüksekliği ile seyredebilir. Tacrine (Alzheimer) (52), metildopa, fenitoin, INH, HMG-CoA redüktaz inhibitörleri, sülfonamidler, salisilatlar ve kinidin gibi ilaçlar bu şekilde aminotransferaz yüksekliğine neden olabilirler (53,54).

Akut hepatosellüler hasarla birlikte aminotransferaz yüksekliği: Alanin transaminaz (ALT) normalin iki katı veya daha fazla yüksek iken ALP normal veya normalin üst sınırında seyrederek. Aspartat transaminaz (AST) yüksekliği, ALT den daha fazla özellikle 2 kat kadar daha fazlaysa alkolik hepatitten şüphelenilir. AST yüksekliği ALT yüksekliğinden daha azsa viral hepatitlerden şüphelenilmelidir.

Aminotransferaz yüksekliğiyle beraber bilirubin yüksekliği: Bu bulgu subfulminan veya fulminan hepatiti akla getirmelidir. Hepatosellüler hasardaki bilirubin yüksekliği prognozunu kötü olduğunu gösterir.

Yüksek ALP seviyesi: Akut kolestatik zedelenmede oluşur. Akut intrahepatik kolestaz iki kategoriye ayrılır. Birincisi hepatosellüler hasarlanma olmadan kolestaz olması; tıkanma sarılığı veya salt kolestazda olur. İkincisinde ise çeşitli derecelerde hepatosit hasarıyla birlikte kolestaz mevcuttur. ALP yüksekliği sıklıkla hiperbilirubinemiyle birlikte dir. Hastalığın gelişimi 4-8 haftayı bulur. Klinik olarak eozinofili, ateş ve döküntü eşlik edebilir.

Patolojik bulgular: Klinik ve laboratuvar bulguların yanında karaciğerdeki histolojik özelliklere göre İİKH aşağıdaki gibi sınıflandırılır:

1. Akut hepatosellüler hasar: Akut karaciğer hasarı benekli nekrozdan fulminan karaciğer yetmezliğine kadar değişen klinikle karşımıza çıkabilir. Benekli nekroz, klasik viral hepatitlere benzemektedir. Bu tabloda tüm asiner zonlar tutulmaktadır. Hepatosellüler hasar, eozinofili ile birlikte dokuda eozinofil infiltrasyonuna eşlik eden balonlaşmış nekroz veya apoptozisden oluşur (55). Bu tür hasara INH, halotan, fenilbutazon, indometazin ve disülfiram yol açabilir. Submasif nekroz zon 1 (periportal) veya zon 3'ü (santral nekroz) etkiler. Periportal değişiklikler asetaminofen, halotan, metoksifluran ve mantar zehirlenmesinde görülür. Masif nekroz submasif nekrozun ilerlemiş halidir ve fulminan karaciğer yetmezliğine ilerler (56).

2. Kronik hepatosellüler hasar: İİKH çok çeşitli şekillerde görülür;

a. Pigment depolanması: Fenotiyazin, fenasetin, aminopirin kullanımı sonrası hepatositlerde lipofusin pigmenti birikimi bildirilmiştir. Hemosiderin birikimi fazla demir alımı veya parenteral demir kullanımında görülebilir (38).

b. Steatohepatit, fosfolipidozis: İİKH'de görülen steatoz makro veya mikro veziküler yağlanma şeklindedir. Mikroveziküler yağlanma alkol, aspirin, valproik asit, amiodaron, piroksikam, didanozin, sitavudin, nevirapin ve yüksek doz tetrasiklin kullanımında görülebilir (38). Makroveziküler yağlanma alkol, kortikosteroidler, metotreksat, minosiklin, nifedipin total parenteral beslenme nedeniyle görülebilir. Fosfolipidozis ilaçlar tarafından lizozomal fosfolipazın inhibisyonu sonucu lizozomlarda fosfolipid birikimine bağlıdır (57). Sık karşılaşılan nedenleri arasında amiodaron, perheksilin maleat, trimetoprim sülfometoksazol, total parenteral beslenme sayılabilir (53).

c. Hepatik fibrozis ve siroz: Pek çok ilaç hafif veya orta ciddiyette kendiliğinden düzelebilen ciddi fibrozisin eşlik etmediği karaciğer hasarı yapabilir. Bazı ilaçlar fibrozis, nodüler rejenerasyon, siroz yapabilir. Fibrozis yapan ilaçlara örnek metotreksat, vinil klorid, A vitamini zehirlenmesi ve eroin sayılabilir. Metotreksat, INH, enalapril ve valproik asit uzun süreli kullanımda siroza neden olabilir (58).

d. Akut kolestaz: Kolestaz, safra akımının tıkanmasına veya salınımının azalmasına bağlanabilir. Histolojik olarak apoptotik hücreler, küçük nekroz odakları, daha az sıklıkla balonlaşmış hücreler ve zon 3 (santral nekroz) nekrozu görülür (59). Safra hepatosit, kanalikül stoplazmasında ve kuppfer hücrelerinde birikir. Anabolik steroidler (metil testosteron, oksimetolon, fluoksimesterol) ve oral kontraseptifler kolestatik reaksiyon yapabilirler. Kolestatik hepatit, kolestazla birlikte hepatosellüler hasar kanıtının birlikte olması durumudur. Kolestatik hepatit yapan ilaçlara örnek olarak eritromisin, azitromisin, siprofloksasin, ofloksasin, ranitidin, simetidin, fenitoin, altın tuzları ve terbinafin gösterilebilir (60).

e. Kronik kolestaz: Histolojik olarak progresif duktopeni, safra kanal yokluğu sendromuna bağlı gelişen kronik portal enflamasyon ve safra bezi dejenerasyonudur. İlacın indüklediği kolestaz sıklıkla ilacın vücuttan atılmasını izleyen günlerde hızlı bir şekilde iyileşir. Bununla birlikte bazı hastalarda anormal karaciğer fonksiyon testi sonuçlarında devamlılık ve primer biliyer siroz benzeri klinik tablo oluşabilir. Klorpropamid, amoksisilin klavulonik asid, trimetoprim-sülfometoksazol, karbamazepin gibi ilaçlar ve TPN intrahepatik kolestaz yapabilir (60).

f. Granümatöz hepatit: Bu tür reaksiyonlar sıklıkla periportal veya portal alanlarda nonkazeifiye epitelooid granülomlarla karakterizedir. Hasar sıklıkla sekel bırakmaz ve geçicidir. Sülfonamidler, sülfonilüre, fenitoin, kinidin, hidralazin bu tür reaksiyona neden olan ilaçlardır. Kabızlık tedavisinde uzun süre mineral yağı kullanımı lipogranülom gelişimine neden olur.

g. Otoimmün hepatit: Histolojik olarak plazma hücreleri baskın olmak üzere aktif nekro-enflamatuvar lezyonlarla karakterizedir. Kadınlar erkeklere göre daha fazla etkilenirler. Otoimmün hepatit yorgunluk, kilo kaybı, sarılık, asit, portal

hipertansiyon, hepatomegali, splenomegali ile kendini gösterir. Antinükleer antikor (ANA), anti-düz kas antikor (ASMA), lupus eritematozus faktör ile birlikte yüksek serum gama globulin seviyesi mevcuttur. Metildopa, minosiklin, nitrofurontain, dihidralazin, lizinopril ve trazadon bu tabloya neden olabilen ilaçlardır.

h. Vasküler lezyonlar - venooklüziv hastalık: Bazı ilaçlar karaciğer sinüsleri, hepatik venler ve arterlerine zarar verebilir. Azotiyopürin böbrek veya kemik iliği nakli yapılan hastalarda, enflamatuvar bağırsak hastalığı nedeniyle uzun süreli tedavi uygulananlarda venooklüziv hastalık yapabilir. Alkol, vitamin A fazlalığı, floksiüridin ve dakarbazin zon 3 nekrozuyla beraber veya tek başına venooklüziv hastalığa neden olabilen diğer ilaçlardır (61,62). Bitkisel çaylar (alkaloidler), akut asit, hızlı kilo alımı, karın ağrısı, hepatomegali yapabilirler, hatta ölüme neden olabilirler (63). Doğum kontrol hapları ve anabolik steroidler fokal sinüzoidal dilatasyon yapabilirler (64). Her iki ilaç peliozis hepatis de (ekstrasinüzoidal kanla dolu lakünler) neden olabilir (65).

i. Neoplastik lezyonlar: Doğum kontrol hapları, steroidler fokal nodüler hiperplazi ve hepatosellüler adenoma neden olabilir (66).

2.1.5. İİKH'de Tanı

Tek ajan kullanımında tanı göreceli olarak daha kolaydır fakat birden fazla ilaç kullanımında hangi ajanın ne şekilde hepatotoksisite yaptığını tespit etmek oldukça güçtür. Bunun için;

Öykü: Kullanılan ilacın dozu, kullanım süresi, kullanım yolu, daha önceki kullanımlar, birlikte kullanılan ilaçlar ya da bitkisel ürünler sorgulanmalıdır. İdiosenkreatik ilaç reaksiyonlarının latent periyodu oldukça değişken olduğu için en az son üç ay içinde kullanılan ilaçlar sorgulanmalı, diğer karaciğer hastalıkları ve kolestaz dışlanmalıdır. İlacı bıraktıktan sonraki sekiz gün içinde serum transaminazlarında % 50'den fazla düşüş olması birden fazla ilaç kullanan hastalarda tanıya yaklaştırma açısından önemlidir. Daha önceden gelişen ilaç reaksiyonlarının listelenmesi de tanıda değerlidir. Ayırıcı tanıda aklımıza gelmesi gerekenler; akut viral hepatitler, otoimmün hepatitler, kolesistit, kolanjit, Budd-Chiari sendromu,

alkolik karaciğer, kolestatik karaciğer hastalıkları, maligniteler, Wilson hastalığı, hemokromatozis ve pıhtılaşma bozukluklarıdır (48).

Laboratuvar: Laboratuvar testleri tam kan sayımı, biyokimya, idrar analizi şeklinde olmalıdır. Hepatosellüler etkilenimde transaminaz yüksekliği ALP yüksekliğine göre daha belirgindir. Kolestazda ise durum tersinedir. Hepatit serolojisi viral nedenleri dışlamak açısından değerlendirilmelidir. Otoimmün hepatitler açısından ANA faydalı olabilir. Pozitif ANA, ASMA tanıya yardımcı olabilir fakat sıklıkla kafa karıştırıcıdır ve bakılması önerilmez. Bazı sit-P-450 enzimlerine özgül antikorların saptanması ilacın tespiti açısından faydalı olabilir. Örneğin dihidralazin - Sit-P1A2, antikonvülzanlar-Sit-P3A1, halotan-Sit-P2E1'e karşı oluşturduğu antikorlar tanıda kullanılabilir (50).

Görüntüleme yöntemleri: Bu yöntemler tanı konduktan sonra karaciğere ait nedenleri dışlamak için kullanılır. Ultrasonografi, Bilgisayarlı Tomografi, Manyetik Rezonans Görüntüleme bu amaçla kullanılabilir.

Karaciğer Biyopsisi: Histopatolojik inceleme tanı için önemli bir araçtır. Normalde karaciğer biyopsisi İİKH'de rutin değildir fakat düşünülen tanıyı desteklemek ve diğer nedenleri kısmen dışlamak için yararlıdır (48).

2.1.6. İİKH'de Tedavi

Erken tanı hepatik hasarlanmayı azaltmada temel rol oynar. Hepatik enzimlerin monitörizasyonu gereklidir. Özellikle ALT yüksekliği, AST yüksekliğinden daha özgüldür. ALT seviyesi normal aralığın 2-3 katına ulaşmışsa yakın takip, 4-5 katına ulaşmışsa ilacın kesilmesi gerekir. İİKH'nın özgül bir tedavisi yoktur. Destekleyici tedavi temeldir. İlk adım ilacı kesmektir. Örneğin parasetamol zehirlenmesinin erken döneminde N-Asetilsistein kullanımı, valproik asid hepatotoksitesinde ise L-karnitin kullanımı tanımlanmış özgül tedavi yöntemlerindedir (67). Genellikle kortikosteroidler tedavide kullanılmaz. İlacın indüklediği kolestazın tedavisi primer biliyer sirozun tedavisine benzer. Kaşıntı için kolestiramin kullanılabilir. Ursodeoksikolik asid kullanımı gerekebilir. Son aşama bir hepatolog görüşünün alınmasıdır (37).

Karaciğer nakli kararı: Hepatotoksik ajanlara özgül antidot mevcut değildir. Bu sebeple ilacın indüklediği fulminan karaciğer yetmezliği olan hastada karaciğer naklini erken dönemde düşünmek ve nakil hazırlıklarına başlamak oldukça hayat kurtarıcı bir yaklaşımdır (68).

Prognoz: Hastanın klinik durumu ve karaciğer hasarının derecesine bağlı olarak oldukça değişkendir. ABD’de 1998-2001 yılları arasında yapılan prospektif bir çalışmaya göre İİKH’dan sağ kalım oranı (karaciğer nakli yapılanlar da dahil) % 72 olarak bulunmuştur (40). Akut karaciğer yetmezliğinin sonuçları etyolojiye, ilacın uygulanmasından ensefalopati gelişimine kadar geçen sürenin uzunluğuna ve eşlik eden veya araya giren enfeksiyonlara bağlıdır (69).

2.2. Parasetamol

2.2.1. Parasetamolün Tarihçesi

Harmon Northrop Morse 1873 yılında p-nitrofenolü asetik asitle indirgeyerek parasetamolü ilk sentezleyen kişidir. Fakat parasetamol tıpta kullanıma girmek için 20 yıl beklemiştir. Brodie ve Axelrod 1948 yılında parasetamolün asetanilid gibi toksik etkilere sahip olmadığını bildirdiler (70).

Parasetamol ilk kez 1955 yılında ‘Tylenol’ adı altında ABD’de piyasaya sürüldü. İngiltere’de 1956 yılında ‘Panadol’ ticari adı ile ağrı ve ateş giderici olarak piyasaya sürüldü. Çocuklar için hazırlanan formu ‘Panadol elixir’ 1958’de kullanıma girdi. Sonraki yıllarda az yan etkisi olan bir analjezik olarak büyük popülerite kazandı.

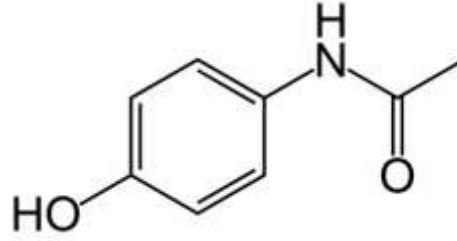
2.2.2. Parasetamolün Yapısı ve Özellikleri

Parasetamol ağrı kesici ve ateş düşürücü etkiye sahip bir ilaçtır. Parasetamolün kimyasal adı N-(4-hidroksifenil) asetamid ve moleküler formülü $C_8H_9NO_2$ ’dir (Şekil 1). Bu kimyasal yapısından dolayı asetaminofen olarak adlandırılır. Molekül ağırlığı 151.17 g/mol, erime noktası 169 °C, yoğunluğu 1.263 g/cm³, sudaki çözünürlüğü 1.4 g/100 ml (20 °C)’ dir.

Parasetamol, aspirin’e yaklaşık olarak eşit derecede analjezik etki yapar. Antipiretik etkisi de aspirine yakın güçtedir, ancak aspirinden farklı olarak,

antiinflamatuvar etkinliği oldukça dūşüktür ve bu tür etkinlik gerektiren durumlarda kullanılmaz. Ancak antiinflamatuvar ilaçların analjezik etkisini artırmak için birlikte kullanılabilir. Antitrombotik etkisi zayıftır, kanama zamanını değiştirmez (11-17).

Parasetamol, benzeri diğer analjezik ilaçlardan farklı olarak, hipotalamus ve omurilik gibi peroksidlerden fakir ortamda, prostaglandin sentezini inhibe edebilir. Antipiretik ve analjezik etkilerin, sırasıyla, hipotalamus ve omurilik arka boynuzunda prostaglandin sentez ve salıverilmesini inhibe etmesi ile ilişkili olduğu ileri sürülmüştür. Prostaglandin sistemi dışındaki beyin sistemlerinde santral analjezik etkisinde de rol oynar. Periferdeki iltihabi dokular gibi peroksidden zengin ortamda, siklooksijenazı inhibe edememesi antiinflamatuvar etkisinin olmamasını açıklayabilir (11-17).



şekil 1. Parasetamolün yapısı

2.3. Parasetamolün Farmakokinetiği ve Toksisitesi

2.3.1. Parasetamolün Etki Mekanizması

Parasetamolün uzun yıllar boyu benzer yapısı nedeniyle asetilsalisilik asit benzeri etki mekanizmasına sahip olduğu düşünöldü. Yani prostoglandin üretimini azaltarak ve siklooksijenaz enzimini inhibe ederek etki ettiği düşünöldü. Buna karşın asetilsalisilik asit ve parasetamol arasında önemli farklar vardır.

Prostaglandinler inflamatuvar yanıtta rol oynar ancak parasetamolün antiinflamatuvar etkisi yoktur. Buna ilaveten siklooksijenaz tromboksanları üretir. Bu ise kan pıhtılaşmasına yardımcı olur. Asetilsalisilik asit kanın pıhtılaşmasını azaltırken, parasetamol etkilemez. Asetilsalisilik asit ve diğer NSAİ ilaçlar mide üzerine istenmeyen etkilere sahipken parasetamol güvenle kullanılabilir. Parasetamol primer olarak merkezi sinir sistemi üzerinde santral siklooksijenaz

inhibisyonu yoluyla etkili olmaktadır (71). Ayrıca serotoninerjik sistemle indirekt etkileşim yoluyla da etki ettiği düşünülmektedir (72).

Asetilsalisilik asit COX üzerine irreversible inhibitör etkiye sahiptir ve direkt olarak enzimin aktif bölgesini bloke eder. Parasetamol ise indirekt olarak COX enzimini bloke eder. Bu blokaj peroksitler varlığında ortadan kalkar (73).

Bilinen COX-1 ve COX-2'den farklı bir COX enzim varyantının parasetamol tarafından selektif olarak bloke edildiği 2002 yılında rapor edilmiştir. Bu enzim sadece beyin ve spinal kordta tespit edilmiş ve COX-3 olarak adlandırılmıştır (74). Tam etki mekanizması halen anlaşılamamıştır ve bu konuda ileri çalışmalar gerekmektedir.

Pina ve arkadaşlarının yayınladığı bir çalışmada ratlara parasetamol verilmesinin serotonin biyoyararlanımını artırdığı gösterilmiştir (75). Fakat bu mekanizma tam olarak bilinmiyor ve insanlarda henüz test edilmemiştir.

2.3.2. Parasetamolün Metabolizması

Parasetamol ağızdan alındığında tamamen ve hızla emilir. İlaç alındıktan 30-60 dakika sonra maksimum plazma konsantrasyonuna ulaşır. Parasetamol bütün dokulara hızla dağılır. Plazma proteinlerine bağlanması zayıftır. Plazma yarı ömrü 1-4 saattir.

Parasetamol başlıca karaciğerde metabolize edilir. Burada sülfat ve glukronid ile konjuge olarak inaktif bileşiklere çevrilir ve sonra böbreklerden atılır. İdrarla parasetamolün %1-3'ü değişmemiş olarak atılır. Yüzde 80'i ise glukronid veya sülfat bileşikleri olarak atılır. Terapotik dozun %5-10'u kadar küçük bir kısmı hepatik sitokrom P450 enzim sistemi yoluyla metabolize edilir. Parasetamolün toksik etkileri alkilleyici bir metaboliti olan N-acetyl-p-benzo-quinone imin'e bağlıdır. Toksisiteden parasetamolden çok N-acetyl-p-benzo-quinone imin sorumludur. Klinik dozlarda bu toksik metabolit hızla glutatyonun sulfidril grupları ile birleşerek toksik olmayan bir konjugata dönüşür ve böbrekler yoluyla vücuttan atılır (76).

2.3.3. Parasetamol Toksisitesi

Parasetamol erişkinlerde ve adolesanlara terapötik amaçlı ağızdan 500–1000 mg dozunda verilir. Gerekirse bu doz 4–6 saatte bir tekrarlanır. Günlük maksimum dozu genellikle 4 g olarak kabul edilir, bazı kaynaklarda 3 g ve hatta 2,6 g olarak belirtilmiştir. Böbrek yetmezliği olanlarda ve alkoliklerde doz azaltılmalıdır. Yukarıda belirtilen dozda 5–10 günden fazla kullanılmaması önerilir. Çocuklarda hepatotoksisite potansiyeli daha düşük olduğu için kg başına verilen doz daha yüksektir; bir kezde 10–15 mg/kg dozunda verilir. Parasetamol yemek sırasında veya yemekten sonra alınırsa, biyoyararlanımı belirgin şekilde azalır, bu yüzden aç karna alınması tercih edilir. Parasetamol oral dozuna eşit dozlarda rektal yoldan da verilebilir.

Bir defada 150mg/kg'dan yüksek dozlar toksik kabul edilirken 300mg/kg üzerindeki tek seferlik dozlar ölümcül kabul edilir (5,6,11-17).

Parasetamol tedavi dozunda karaciğerde sülfat ve glukoronid konjugatları şeklinde inaktive olmaktadır (bir kısmı sitokrom P450 etkisiyle). Bununla birlikte yaklaşık %8 oranında yüksek toksisitesi olan ara metabolitleri de oluşur.

Bunlar karaciğerde glutatyonla reduksiyona uğrayıp, idrardan sistein ve merkaptürik asit konjugatları şeklinde elimine olmaktadırlar. Aşırı dozda parasetamol alınmasında bu toksik metabolitlerin (*N-asetil-pbenzoquinone-imine=NAPQI*) oluşumu artmakta ve karaciğerin sınırlı olan glutatyon depolarının hızla boşalmasına yol açmaktadır. NAPQI hepatositlerde nekroz oluşturan makromoleküllerle geri dönüşümsüz olarak bağlanır ve karaciğer nekrozuna yol acar. Oluşan karaciğer nekrozunun şiddeti, glutatyon depoları, sitokrom P450 sistemi ve glukuronizasyon sistemin aktivitesine bağlıdır. NAPQI'nın biyolojik yarı ömrü kısadır ve hızla bir glutatyonla birleşerek detoksifikasyona uğrar. Parasetamolun toksik ve elektrofilik metabolitleri normalde hepatik glutatyonla konjuge olurlar, ancak ortamdaki glutatyonun yetersiz kalması makromoleküler karaciğer nekrozunun başlıca nedenidir. NAPQI'nın aşırı oranda birikmesi ya da karaciğer glutatyon depoları tükenmesi durumunda, NAPQI proteinlere ve hepatositlerin lipid tabakasına bağlanarak hepatoselüler ölüme ve sentrolobuler nekroza yol açmaktadır.

Kronik alkoliklerde karaciğer glutatyon depoları azalmış olduğundan parasetamol toksisite riski artmaktadır. Klinik ve deneysel çalışmalara göre karaciğer mikrozomal sistemini etkileyen ilaçlar (difenilhidantoin, fenobarbital, valproik asid), toksik metabolit olan NAPQI gelişmesini hızlandırarak parasetamol toksisitesine karşı duyarlılığı artırır (5,6, 11-17, 77,78).

Benzer etkiler böbrekte tübüler hücrelerde de görülür. Bununla birlikte, çocuklarda parasetamol toksisitesine karşı duyarlılık, metabolik yolaktaki olası farklılık nedeniyle daha az görülür (5-7, 11-17, 77,78).

Parasetamol zehirlenme belirtileri her zaman tam olarak ortaya çıkmayabilir. Yüksek dozda ilaç alınışından 1–2 saat sonra bulantı ve kusma görülür. Daha sonra karaciğer gerilmesine bağlı karın ağrısı olur. Kırksekiz saat sonra geçici bir iyileşme tablosu şekillenebilir. Parasetamol içeren preparatların içinde diğer MSS depresanları yoksa zehirlenmede bilinç kaybı olmayabilir. Hallusinasyonlar ve sürekli kusmalar karakteristiktir. Akut zehirlenmelerde, karaciğer bozuklukları ile ilgili belirtiler genellikle 3–4 gün sonra ortaya çıkmaktadır. Sağ subkostal boşlukta abdominal ağrı ve karaciğer duyarlılığı vardır. Sarılık genelde 3–4 gün sonra ortaya çıkar. Eğer karaciğer nekrozu çok fazlaysa 4–5. günlerden sonra bilinç kaybı (koma) konfüzyon, hiperventilasyon, hipoglisemi ve koagülasyon bozukluklarına bağlı kanama ile birlikte karaciğer yetmezliği şekillenir. Ölümle sonuçlanan olgularda çoğunlukla, solunum yollarında gram (-) enfeksiyon, serebral ödem ve dissemine intravasküler koagülasyon görülmektedir (Tablo 1.) (5,6,11-17,77,78).

Kronik alkolizm, malnutrisyon ya da anoreksi durumlarında karaciğer glutatyon düzeyi düştüğünden ve NAPQI detoksifikasyonu yetersiz olduğundan, ayrıca karaciğer mikrozomal enzim sistemini indükleyen ilaçlar (rifampisin, fenitoin, İNH, fenobarbital vb...) da NAPQI oluşumunu artırdığından, bu durumlarda parasetamol zehirlenmelerinde karaciğer nekrozu oluşma riski daha yüksektir. Küçük çocuklarda erişkinlere oranla parasetamol zehirlenmesi belirtilerinin daha hafif olması, bunlarda karaciğer glutatyon düzeyinin yüksek ve NAPQI detoksifikasyonun fazla olması ile açıklanmaktadır (5,11,12).

Parasetamol zehirlenmelerinde akut böbrek yetmezliği çok sık ortaya çıkmaz. Ancak ağır karaciğer yetmezliği olgularında görülebilir. Bu durumda parasetamol

karaciğer nekrozu oluşumuna benzer şekilde renal tübüler nekroza da yol açabilmektedir. Ayrıca çeşitli nedenlere bağlı hepatik ensefalopatilerde de böbrek yetmezliği görülmektedir (5,11,12).

Kanda parasetamol düzeyi prognoz konusunda bilgi verir. İlacın alınmasından 12 saat sonra kan düzeyi 50 mcq/mL'in üzerine çıkarsa karaciğer zedelenme riski yüksektir (Şekil 2).

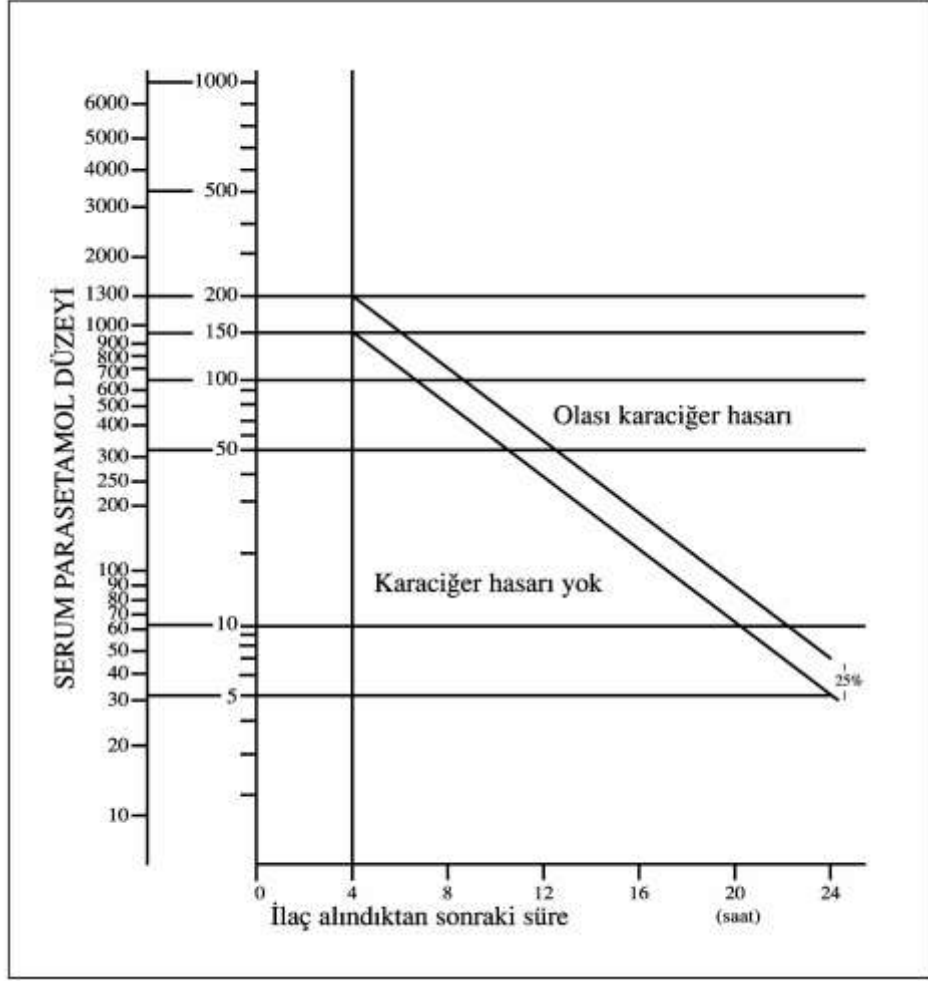
Parasetamol erişkinlerde 10 g'ın üzerinde alınırsa sitotoksik hepatit riski oluşturabilmektedir. Çocuklarda ağır zehirlenmeler ve karaciğer nekrozu 300 mg/kg üstündeki dozlarda meydana gelmektedir (5,6,8,11-17,77,78)

Akut zehirlenme oluşmasından yaklaşık 12 saat sonra ALT ve AST düzeyleri artar ve doruk düzey 72–96 saat sonra oluşur. Aminotransferaz aktivitesi genellikle 10000 ünite'nin üstündedir. Buna karşın, alkalen fosfataz yükselmesi fazla değildir (5,6,8,11-17,77,79).

Plazma bilirubin konsantrasyonundaki artma enzimlere oranla daha yavaş seyreder. Protrombin zamanı çoğunlukla normalin üstündedir (24–48 saat). Sarılık görülen bazı hastalarda hiperglisemi olmaktadır, bununla birlikte karaciğer yetmezliği olan olgularda genellikle hipoglisemi görülür. Böbrek yetmezliği gelişmişse, plazma kreatinin düzeyi üreden daha çabuk yükselir (47-53, 62, 63, 65).

Parasetamol zehirlenmesinde ayrıca anemi, methemoglobinüri, deri reaksiyonları, pankreatit ve miyokardiyal nekroz gibi belirtilerin de görülebileceği bilinmektedir. Parasetamol maksimal tedavi dozunda (4 g/gün) uzun süre kullanılırsa (1 yıldan fazla), kronik hepatit oluşturabilmektedir (5,11-17,79).

mcM/L mcg/mL



Şekil 2. Parasetamol serum düzeyinin zamana bağlı değişimini gösteren eğrinin karaciğer hasarı ile ilişkisi (Rumack-Matthew nomogramı)(13).

Tablo 1. Parasetamol zehirlenmesinde belirti ve bulgular (5,13,14).

| Zehirlenme Evreleri | Belirti ve Bulgular |
|-------------------------------|---|
| 1. Evre (ilk -24 saat) | Hastada belirti olmayabilir İştahsızlık, bulantı, kusma, halsizlik Transaminazlarda yükselme |
| 2. Evre (25-72 saat) | İştahsızlık, bulantı, kusma Karın sağ üst kadranında ağrı Transaminazlarda yükselme Bilirubin düzeyinde artma Protrombin zamanında uzama Böbrek işlevlerinde bozulma |
| 3. Evre (73-96 saat) | Fulminan karaciğer yetmezliği (sarılık, pıhtılaşma bozukluğu, hepatik ensefalopati) Çoklu organ yetmezliğine bağlı ölüm |

Parasetamol zehirlenmesinde erken tanı ve tedavi mortalite ve morbidite oranını önemli ölçüde düşürmektedir. Yaşamsal destek sağlandıktan sonra, ilk 1-2 saat içinde oral aktif kömür (1g /kg) uygulamasının yararlı olduğu bildirilmekle birlikte son yıllarda aksini bildiren yazılar da vardır (5-10).

Aşırı dozda parasetamol alınması durumlarında ortaya çıkan toksik belirtilere karşı, antidot olarak N-asetilsistein (NAC) kullanılmaktadır. NAC karaciğerde glutatyon sentezini artırarak N-asetil-p-benzoquin imin (NAPQI) gibi toksik metabolitlerin detoksifikasyonunu sağlamaktadır. NAC zehirlenmiş hastanın karaciğerinde azalmış olan glutatyonun yerini alarak NAPQI ile konjuge olarak, glutatyon depolarının yok olmasını önler, sulfidril gruplarını oluşmasına yardımcı olur. Başlangıçta oral veya intravenöz yoldan 140 mg/kg verilen N-asetilsistein, daha sonra 4 saat ara ile 70 mg/kg verilir.

Böbrek yetmezliğinde diüretik olarak furosemid kullanılabilir. Oral yoldan metionin 4 saatte 2,5 g (toplam 10 g) kullanılabilir. Parasetamol zehirlenmesinde intravenöz sisteamin'de bazı kliniklerde kullanılmaktadır (5-9,11-17).

Hemoperfüzyon ile parasetamol'un etkin bir şekilde kandan uzaklaştırılabileceği bildirilmiştir. Ağır karaciğer yetmezliği (arteriyel $pH < 7,3$ ve $PT > 100s$, kreatinin $> 300mmol/L$) ve III. basamak ensefalopati durumlarında karaciğer transplantasyonu düşünülmelidir (5-8,11-17).

2.4. Serbest Radikaller

Atomun yapısını oluşturan elektronlar; orbita adı verilen yörüngede çiftler halinde bulunurlar. Az sayıda molekülde ise elektronlar çiftler halinde olmayıp tek olarak bulunurlar. Eksik elektronlu bu moleküller karşılaştıkları herhangi bir molekül ile aşırı şekilde reaksiyona girmeye eğilimli olup diğer moleküllerle elektron alışverişinde bulunurlar. İşte diğer moleküllerle kolayca elektron alışverişi yaparak onların yapısını bozan bu moleküllere radikal, serbest radikal veya oksidan moleküller denilir. Tek olan bu elektron yapıları genellikle üst kısma yazılan bir nokta (O^{\bullet}) veya çizgi (O^{\ominus}) ile gösterilir (80,81).

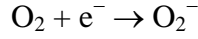
Biyolojik sistemlerde en önemli serbest radikaller oksijenden oluşanlardır. Moleküler oksijenin (O_2), iki tane eşlenmemiş elektronu bulunduğundan dolayı kendisi aynı zamanda bir radikaldir. Oksijenin bu özelliği onun diğer serbest radikallerle kolayca reaksiyona girmesini sağlar. Organizmada oksijenin kısmi redüksiyonuyla, çok sayıda ve yüksek derecede reaktif ürünler oluşur. Oksijen, hücre içinde çeşitli reaksiyonlardan sonra en son H_2O 'ya indirgenir (82).

| Radikaller | | Radikal Olmayanlar | |
|--------------|----------------------|---------------------|----------------------|
| Hidroksil | (HO^{\bullet}) | Hidrojen peroksit | (H_2O_2) |
| Alkoksil | (RO^{\bullet}) | Singlet oksijen | (1O_2) |
| Peroksil | (ROO^{\bullet}) | Ozon | (O_3) |
| Süperoksit | (O_2^{\ominus}) | Hipoklorid asit | ($HOCl$) |
| Nitrik oksit | (NO^{\bullet}) | Lipid hidroperoksit | ($LOOH$) |
| Azot dioksit | (NO_2^{\bullet}) | Peroksinitrit | ($ONOO^{\bullet}$) |

Şekil 3. Reaktif oksijen türevleri

2.4.1. Süperoksit Radikali (O_2^-)

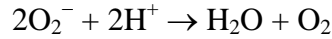
Süperoksit radikali; tüm aerobik hücrelerde oksijenin bir elektron alarak indirgenmesi sonucu meydana gelir (83).



Süperoksit, serbest radikal olmakla beraber kendisi çok zararlı değildir. Asıl önemi H_2O_2 kaynağı ve geçiş metal iyonlarının indirgeyicisi olmasıdır (84).

2.4.2. Hidrojen Peroksit

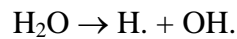
Hidrojen peroksit, O_2 'nin enzimatik olarak iki elektron alması ya da O_2 'lerin enzimatik/nonenzimatik dismutasyon tepkimeleri sonucu oluşur (80).



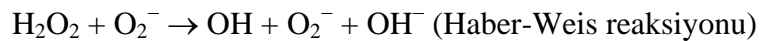
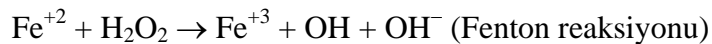
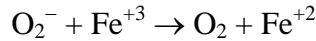
Yapısında paylaşılmamış elektron içermediğinden radikal özelliği taşımaz, reaktif bir tür değildir.

2.4.3. Hidroksil Radikali

Hidroksil radikali (OH^-) hemen bütün biyomoleküllerle reaksiyona girebilen serbest radikaller içinde en kuvvetli oksidan olan radikaldir. Suyun iyonize radyasyona maruz kalması ile oluşur (80,84,85)



Hidroksi radikalleri, fenton reaksiyonu ile H_2O_2 'nin Fe^{+2} ve diğer geçiş elementleri varlığında (Cu, Mn, Zn, Cr, Co, Ni, Mo) indirgenmesiyle, H_2O_2 'nin O_2^- radikali ile reaksiyona girmesiyle de (Haber-Weis reaksiyonu) oluşmaktadır (84).



2.4.4. Singlet Oksijen

Singlet oksijen ($1O_2$), ortaklanmamış elektronu olmadığı için radikal olmayan reaktif oksijen molekülüdür. Doymuş yağ asitleri ile doğrudan tepkimeye girerek peroksi radikalini (ROO^\ominus) meydana getirir ve lipid peroksidasyonu'nu (LPO) başlatabilir.

2.4.5. Serbest Oksijen Radikal Kaynakları

Organizmada serbest radikaller hem normal metabolizmanın yan ürünü olarak, hem de radyasyon, ilaçlar ve diğer zararlı kimyasal maddelerin etkisi ile endojen ve eksojen kaynaklardan oluşabilmektedir (86).

| Endojen kaynaklar | Eksojen kaynaklar |
|------------------------------------|---------------------------|
| Mitokondriler (solunum zinciri) | Radyasyon |
| Hücre zarı (prostoglandin sentezi) | İlaçlar |
| Sitokrom P-450 | Sigara, alkol, uyuşturucu |
| Aktive lökositler (fagositoz) | Metal iyonları |
| Mikrozomal elektron taşıma zinciri | |
| Oksidan enzimler | |

Şekil 4. Serbest oksijen radikalleri kaynakları

2.4.6. Organizmada Serbest Radikal Reaksiyonlarını Artıran Faktörler

Eksojen ve endojen faktörlerle ROT oluşumu artabilir (87).

2.4.7. Serbest Radikallerin Etkileri

Serbest radikaller hücrelerin lipid, protein, DNA, karbonhidrat ve enzim gibi tüm önemli bileşiklerini etkilerler (88).

2.4.7.1. Serbest Radikallerin Membran Lipidlerine Etkileri

Serbest radikaller, savunma mekanizmalarının kapasitesini aşacak oranlarda oluştuğu zaman organizmanın çeşitli yapılarında bozukluklara yol açarlar.

Biyomoleküllerden en hassas olanı lipidlerdir (89). Lipid peroksidasyonu çoklu doymamış yağ asitleri'nin (PUFA) oksidan maddeler etkisiyle alkol, aldehit, hidroksi asit, etan ve pentan gibi çeşitli ürünlere yıkılmasını kapsayan reaksiyonlar dizisidir. Peroksidasyon ROT'un PUFA'nın yan zincirdeki metilenik karbonlardan hidrojen atomunu çıkarmak için yaptıkları atak ile başlar. Hidrojen atomunun zincirden çıkarılması, karbon atomu üzerinde eşleşmemiş bir elektron bırakarak karbon merkezli radikal oluşumuna yol açar. Bu radikal moleküler düzenleme ile konjuge şekline çevrildikten sonra moleküler oksijenle reaksiyona girerek ROO⁻ radikali oluşur. Bu ROO⁻ radikali diğer ROO⁻ radikali ile birleşebilir ya da membran proteinleri ile etkileşebilir. En önemlisi ROO⁻ radikalinin membrandaki diğer yağ asitlerinden hidrojen atomlarını çıkarması ve peroksidatif zincir reaksiyonunu yaymalarındır. Böylece her defasında lipid hidroperoksitler (LOOH) ve yeni bir ROO⁻ radikali oluşacaktır. Peroksidasyon bir kere başladıktan sonra yayılabilmekte, yüzlerce yağ asiti zincirleri LOOH'lere çevrilebilmektedir. Bu şekilde yağ asitlerinin kaybı membran hasarına yol açmaktadır (89).

Üç veya daha fazla çift bağ içeren yağ asitlerinin peroksidasyonu malondialdehit (MDA) üretimi ile sonuçlanır. Malondialdehit LPO'nun derecesinin saptanmasında kullanılan bir belirteçtir (90). Lipid hidroperoksitler ve lipid ROO⁻ radikalleri hücrenin birçok komponenti ile reaksiyona girer. Malondialdehit, membran komponentlerinin polimerizasyonuna ve çapraz bağlanmalarına neden olarak iç membranın bazı özelliklerini değiştirir. Ayrıca diffüze olabildiğinden deoksiribonükleik asit'in (DNA) nitrojen bağları ile reaksiyona girebilir. Malondialdehit bu özelliklerinden dolayı mutajenik, genotoksik ve karsinojenik bir bileşiktir (91). Membrandaki PUFA ve protein içeriğinin fazla olması peroksidasyonun yayılmasını artıran faktörlerdir. Bunun yanında kolesterolün varlığı peroksidasyonu baskılamaktadır. Demir ve bakır iyonları ya da bu iyonların fosfat esterleriyle oluşturduğu basit şelatlar (Fe⁺²-ADP) hem, Hb ve miyoglobini de içeren bazı demir proteinleri, LOOH'ın yapısını bozarak peroksidasyonu sonlandırılmaktadır. Ayrıca C ve E vitamini gibi zincir reaksiyonlarını durduran, kıran antioksidanların varlığı da peroksidasyonun sonlandırılmasında önemlidir (92).

2.4.7.2. Serbest Radikallerin Proteinler Üzerine Etkileri

Proteinler serbest radikal etkisine PUFA'dan daha az hassastırlar ve başlayan zincir reaksiyonlarının hızla ilerleme ihtimali daha azdır. Doymamış bağ ve sülfür ihtiva eden moleküllerin ROT ile reaktivitesi yüksek olduğundan triptofan, tirozin, fenil alanin, histidin, metionin ve sistein gibi amino asitlere sahip proteinler serbest radikallerden kolaylıkla etkilenirler. Serbest radikallerin neden olduğu hasar sonucu proteinlerde parçalanma, çapraz bağlanma ve agregasyon oluşur (85).

2.4.7.3. Serbest Radikallerin Karbonhidratlar Üzerine Etkileri

Glikoz ve mannoz gibi monosakkaritlerin otooksidasyonu sonucu H_2O_2 , peroksitler ve okzalaldehyitler oluşabilir. Okzalaldehyitler DNA, ribonükleik asit ve proteinlere bağlanarak antimitotik etki göstererek kanser ve yaşlanma olaylarında rol oynarlar (87).

2.4.7.4. Serbest Radikallerin Nükleik Asitler ve DNA'ya Etkileri

Serbest oksijen radikallerinin nükleik asitler ve DNA üzerine etkisiyle, DNA zincirinde kopmalar, bazlarda ve deoksiribozlarda kırılmalar ve hasar oluşur. Sonuçta sitotoksisite, mutasyon ve malign değişim potansiyeli oluşabilir.

2.4.8. Antioksidan Savunma Sistemleri

Serbest radikallerin zararlı etkilerini engellemek üzere organizmada antioksidan savunma sistemleri veya kısaca antioksidanlar olarak adlandırılan çeşitli savunma mekanizmaları gelişmiştir. Sağlıklı bireylerde oluşan ROT ile antioksidan savunma sistemi arasında bir denge söz konusudur. Antioksidanlar genel olarak endojen ve eksojen olmak üzere iki grupta incelenir.

2.4.8.1. Endojen Antioksidanlar

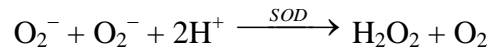
a. Enzimatik antioksidanlar (mitokondriyal sitokrom oksidaz sistemi, SOD, CAT, glutatyon peroksidaz (GSH-Px), glutatyon S transferaz, glutatyon redüktaz).

b. Enzimatik olmayan antioksidanlar (vitamin E, β karoten, vitamin C, melatonin, sistein, seruloplazmin, transferrin, laktoferrin, miyoglobulin, albumin, bilirubin ve glutatyon).

2.4.8.1.1. Enzimatik Antioksidanlar

2.4.8.1.2. Süperoksit Dismutaz (SOD)

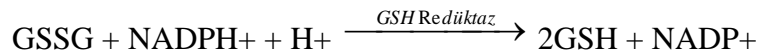
Süperoksit genel olarak, zincirleme tepkimeleri başlatır ve tepkimeler boyunca hidroksil radikali, O_2 ve organik radikallerin oluşumuna neden olur. Radikalik zincir tepkimelerinin başlaması ve tepkimeler boyunca $O_2^{\cdot-}$ 'en çok daha reaktif ve toksik etkili radikallerin yapımı SOD tarafından engellenir. Serbest radikallere karşı organizmada ilk savunma SOD enzimiyle gerçekleşir. SOD, CAT ve GSH-Px'den farklı olarak serbest radikali substrat olarak kullanır.



Süperoksit dismutaz ile katalizlenen tepkimenin ürünü olan H_2O_2 ise CAT ile H_2O 'ya indirgenmektedir.

2.4.8.1.3. Glutatyon Redüktaz (GSH-Redüktaz)

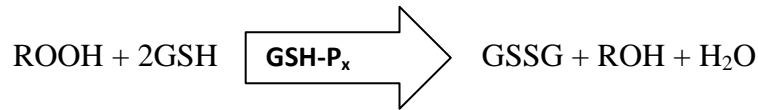
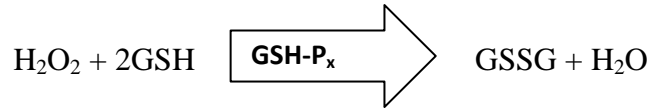
Redükte glutatyon (GSH)'un yüksek konsantrasyonları ve okside glutatyonun (GSSG) düşük düzeyleri organizmanın yaşamı için gereklidir. Redükte glutatyon, protein sülfhidrillerinin oksidasyonunu geriye çevirir. Yüksek GSSG düzeyleri protein sülfhidrilleriyle reaksiyona girer ve proteinleri inaktive eden karışık GSH-protein sülfhidrilleri oluşturur. Antioksidan savunmanın etkinliğini sürdürebilmesi için oksitlenmiş GSH'ın tekrar indirgenmiş şekle dönüşmesi gerekir. Glutatyon redüktaz, nikotinamid adenin dinükleotid fosfat (NADPH) varlığında indirgenme reaksiyonunu katalizler.



NADPH/NADP⁺ ve GSH/GSSG oranlarındaki değişiklikler akut prooksidan stres ile antioksidan savunma arasındaki dengesizliğin belirtisidir.

2.4.8.1.4. Glutatyon Peroksidaz (GSH-Px)

Hidrojen peroksitlerin indirgenmesinden sorumlu enzimdir. Tetramerik yapıdadır. Dört selenyum atomu içeren sitozolik bir enzimdir. Tepkime sonucunda okside glutatyon (GSSG) oluşmaktadır. Enzim aktivitesinin %60-75'i hücrelerin sitoplazmasında, %25-40'ı ise mitokondridedir. Enzim aktivitesi eritrositler ve hepatositlerde çok yüksektir. İntrasellüler lipidleri peroksidasyondan koruyan en önemli enzimdir. Ayrıca hücre membranında oluşan lipid peroksidasyonunda da etkilidir. ROT maruziyeti sonrası membranda fosfolipid hidroperoksitler oluşur ve bunları alkole indirgeyerek membran bütünlüğünü korur. Bu enzime de fosfolipid hidroperoksit glutatyon peroksidaz (PLGSH-P_x) adı verilir (93,94).



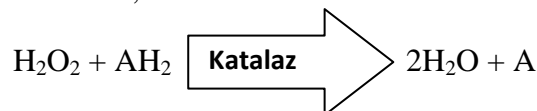
Tepkime sonucunda oluşan okside glutatyon, glutatyon redüktazın (GSSH-R) etkisi ile tekrar glutatyona dönüşür.



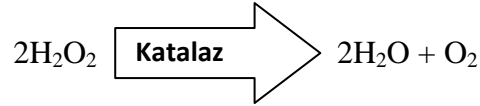
2.4.8.1.5. Katalaz

Katalaz tüm hücre tiplerinde değişik konsantrasyonlarda bulunur. Hidrojen peroksidin O₂ ve H₂O'ya indirgenmesini katalizler. Dört adet hem grubu içeren hemoproteindir. Eritrositler katalaz enzimini yüksek miktarlarda bulundurmaktadır. Katalaz enzimi antioksidan etkinliğin %98'inden fazlasını karşılamaktadır. Hidrojen peroksidi suya ve oksijene indirger. Katalaz enzimi 2 ana mekanizma kullanır: Birincisi oksidatif stresin düşük olduğu dönemlerde peroksidatik reaksiyon, ikincisi ise oksidatif stresin yüksek olduğu dönemlerde katalitik reaksiyondur (95).

Peroksidatif mekanizma;



Katalitik mekanizma;



2.4.8.2. Enzimatik Olmayan Endojen Antioksidanlar

C vitamini (askorbik asit), E vitamini (α -tokoferol), β karoten, melatonin ve glutatyondur.

2.4.8.2.1. Diğer Enzimatik Olmayan Endojen Ajanlar

Bazı durumlarda ürik asit, sistin, albumin, bilirubin, seruloplazmin, transferin, laktoferrin, kreatinin ve östrojenler de serbest radikallere karşı koruyucu rol oynarlar (92).

2.4.9. Eksojen Antioksidanlar

Ksantin oksidaz inhibitörleri (allopürinol, oksipürinol), NADPH oksidaz inhibitörleri (adenozin, lokal anestezikler), kalsiyum kanal blokerleri (verapamil, nifedipin), non-steroid antiinflamatuvar ilaçlar (ibuprofen), demir tutucuları (desferroksamin, EDTA), rekombinant SOD (r-SOD), nötrofil adezyon inhibitörleri, Asetil sistein, mannitol, melatonin

2.5. Nar (*Punica Granatum*)

Nar (*Punica granatum*), kınagiller (Lythraceae) familyasından, boyu 2-5 metre arasında değişen bir ağaca sahip, içinde küçük çekirdekler ve meyve gövdesini oluşturan yüzlerce tanecikten oluşmuş, hafif ekşi ve bazen tatlı tadı olan, ılıman iklimlerde yetişen, anavatanı Güney Asya olarak bilinen bir tropik-subtropik meyve türüdür. Kuraklığa dayanıklıdır ve Akdeniz tipi bir kış veya yaz yağmuru iklimine sahip bölgelerde yetişir. -10 °C'ye kadar soğuğa dayanabilir. Akdeniz havzasında birkaç bin yıldır ekilmekte olan narın ilk olarak İran'da ortaya çıktığı düşünülmektedir. Afganistan ve Pakistan'dan Himalayalar'a kadar geniş bir alanda yetişir.

Latince ismi *Punica granatum*'un kabaca *Fenike elması* anlamına gelmesi, Fenikelilerin yemişi Akdeniz havzasında taşımış olduklarını akla getirmektedir.

Side (Antalya) nar demektir. Ayrıca, İspanya'nın güneyindeki tarihi bir şehir olan Granada, adını nar meyvesinden almıştır

Türkiye'de pek çok yerde yetiştirilen nar yoğunlukla Ege ve Güneydoğu Anadolu Bölgelerinde ekine alınmıştır.

Nar suyu, Orta Doğu ülkelerinde çok tüketilen bir içecektir. 2000li yıllardan itibaren ABD'de popüler olmuştur.

Hıristiyanlıkta nar diriliş ve İsa'nın sonsuz yaşam sembolüdür. Yahudi inancına göre nar, doğruluğu simgeler.

Bir inanca göre, Adem ile Havva'ya yasak olan cennet meyvası elma değil, nardır. Bu yüzden, Hıristiyanlar'ın dini süsleme sanatında nar, sıklıkla kullanılan bir motiftir. Papaz giysilerinde, oda duvarlarına asılan dinsel süsleme amaçlı kumaşlarda ve metal işlerinde nar motifine rastlanır. Budizm'de nar kutsal olan üç çeşit kutsal meyveden biridir (portakal, şeftali ve nar). Budist sanatında nar olumlu etkilerin özünü temsil eder.

Ülkemizde yaygın olarak bulunan bir bitki olan nar halk arasında ishale karşı, idrar söktürücü, bağışıklık güçlendirici olarak ve kalp hastalarında yüzyıllardır kullanılmaktadır.

Bitkinin bugüne kadar çeşitli parçalarından elde edilen öz ve içeriklerle yapılan çalışmalarla antidiyareik (24), antifungal (25), antiülser (26), antitümöral (27), antibakteriyel (28), etkileri kaydedilmiştir. Coursodon ve arkadaşlarının ratlarda yaptığı çalışmada nar tohumu yağının nekrotizan enterokolitte koruyucu etkisi olduğu ispatlanmıştır (96). Nar suyunun hiperkolesterolemik farelerde, ateroskleroza yatkın bölgelerin, endotelial hücre kültürlerinde, oksidasyona duyarlı genlerin ekspresyonunda rol aldığı gösterilmiştir (97). Nar suyunda bulunan flavonoidlerin düşük dansiteli lipoproteinlerin (LDL) oksidasyonunu engelleyerek ateroskleroza karşı koruyucu etkisinin olduğu gösterilmiştir (98). Nardaki tanen adlı maddenin anti proliferatif ve proapoptotik etkileri gösterilmiştir (99).

Ayrıca, nar potansiyel antioksidan etkisinden dolayı gitgide önem kazanmaktadır. Nar suyundan bazı etkili antioksidan maddeler izole edilmiş, oksidatif strese karşı etkilisi kanıtlanmıştır (29,30). Meyvenin tanelerinin,

kabuğunun, tohumunun ve tohumundan elde edilen yağında antioksidan aktivitesi olduğu saptanmıştır (33). Nar suyunun ve nar ekstrelerinin antioksidan aktivitesi meyvenin içerdiği elaik asit ve elaitanin gibi polifenollere bağlanmaktadır (99). Nar suyunda 1800–2100 mg/l polifenol olduğunu raporlamışlardır, punikalein ise nar suyunun antioksidan aktivitesinden sorumlu majör elaitanindir (30).

Deneysel karaciğer hasarında nardan elde edilen maddelerin koruyucu etkisi olduğu kanıtlanmış (31-34) fakat parasetamol toksisitesini önlemek amacıyla nar kullanılmamıştır.

3. GEREÇ ve YÖNTEM

Çalışma, Süleyman Demirel Üniversitesi (SDÜ) Tıp Fakültesi Deney Hayvanları Etik Kurulu'ndan onay alınarak, SDÜ Tıp Fakültesi Deneysel Araştırma Merkezi, Biyokimya ve Histoloji Laboratuvarlarında, hayvan deneyleri etik kurulu kurallarına uygun olarak gerçekleştirildi.

3.1. Gereç

3.1.1. Deney Hayvanları

Bu çalışmada; SDÜ Deney Hayvanları Üretim Merkezinden alınan 36 adet Wistar-Albino cinsi, 4-6 haftalık, ağırlıkları 145-195 g arasında olan dişi rat kullanıldı. Çalışmadaki ratların hepsi deney süresince % 50-60 nemli ortamda, 12 saat aydınlık ve 22-24°C oda sıcaklığında bulunduruldu. Ratlar gruplar halinde ayrı kafeslere konarak yeterli miktarda içme suyu ve standart rat yemi verildi. Deneyden 10 gün önce alınan ratlar, 10 günlük uyum dönemi geçirdiler.

3.1.2. Kullanılan Malzeme ve Aletler

Soğutmalı santrifüj eppendorf MR 5415 (Almanya), derin dondurucu Facis (Fransa), hassas terazi Scaltec (İsviçre), Vorteks (karıştırıcı) Nüve NM 100 (Türkiye), otomatik pipetler Gilson (Fransa), eppendorf, ultraviyole spektrofotometre Shimadzu UV 1601 (Japonya), homojenizatör Ultra Turrax T25 (Almanya), Viva (ilaç düzeyi ölçüm cihazı) Dade Dehring (Almanya-ABD).

3.1.3. Nar Suyunun Hazırlanışı

Mersin ilinde 2012 yılında yetişen Hicaz cinsi narlar, her sabah kesilip tanelere ayrıldı, taneler ezilerek ve süzgeçten geçirilerek sıkıldı, yarım saat içerisinde taze sıkılmış nar suları 1.5 mL gavajla deney hayvanlarına verildi (Resim 1).



Resim 1. Deney hayvanlarına gavajla oral nar suyu uygulaması

3.1.4. Deney Gruplarının Oluşturulması ve Deneyin Kurgusu

| GÜNLER | GRUPLAR | | | |
|-------------|---|---|-----------------------------|----------------------------------|
| | Grup 1 (parasetamol) n=10 | Grup 2 (parasetamol+nar suyu) n=10 | Grup 3 (nar suyu) n=8 | Grup 4 (kontrol) n=8 |
| 1-7. gün | distile su 1.5 mL/ gavajla | nar suyu 1.5 mL/ gavajla | nar suyu 1.5 mL/ gavajla | distile su 1.5 mL/ gavajla |
| 8. gün | Parasetamol 3 g/kg distile su 1.5 mL/ gavajla | Parasetamol 3 g/kg nar suyu 1.5 mL/ gavajla | nar suyu 1.5 mL/ gavajla | distile su 1.5 mL/ gavajla |
| 9.gün | Sakrifikasyon, kan ve doku örneklerinin alınması | | | |

Parasetamol grubu (PS): Sekiz gün 1.5 mL distile su gavajla sabah saat 08'de, 8. gün 3000mg/kg parasetamol tek dozda, distile su ile eritilerek, gavajla öğlen saat 12'de,

Nar Suyu + Parasetamol (PS+Nar): Sekiz gün 1.5 mL nar suyu gavajla sabah saat 08'de, 8. gün 3000 mg/kg parasetamol tek dozda, distile su ile eritilerek, gavajla öğlen saat 12'de,

Nar Suyu grubu (Nar): 8 gün 1.5 mL nar suyu gavajla sabah saat 08'de

Kontrol grubu (Kont): 8 gün 1.5 mL distile su gavajla sabah saat 08'de

3.2. Doku ve Kan Örneklerinin Alınması

Deney bitiminde intraperitoneal Ketamin (Ketalar, Pfizer) 80 mg/kg ve Xylazine (Alfamin, Alfasan IBV) 10 mg/kg ile anestezi sağlandı, aortadan kan örnekleri alınarak ratların yaşamına son verildi. Kan örnekleri jelli biyokimya tüplerine konularak 5000 devirde 5 dakika santrifüj edildi. Serum örneklerinden aynı gün içinde ALT, AST, total bilirubin (T.Bil.), direk bilirubin (D.Bil.), LDH düzeylerine Beckmann Coulter AU5800 otoanalizöründe (BECKMAN COULTER INC., JAPAN) spektrofotometrik yöntemle cihazın kitleri kullanılarak analiz yapıldı.

3.3. Karaciğer Dokusunun Homojenizasyonu

Karaciğer dokuları pH 7.4 olan fosfat tamponu ile dolu cam tüplere konuldu. Herbir sıçanın karaciğer dokuları tartılarak fosfat tamponu (pH 7.4) ile 10 kat dilue edildi. Janke & Kunkel Ultraturax T-25 (Almanya) marka doku parçalayıcı ile ve daha sonra UW-2070 Bandeun Electronic (Almanya) markalı sonikatör ile sonike edilerek homojenizasyonu tamamlandı. Doku örneği, Eppendorf 5415-R (Almanya) marka soğutmalı santrifüj ile 10000 g'de, 15 dk. santrifüj edildi ve süpernatanı alınarak ependorf tüplere porsiyonlandı. Homojenize edilen örneklerin süpernatantlarında Lowry yöntemi kullanılarak protein tayini yapıldı (100). Daha sonra doku homojenatları çalışılincaya kadar -80 °C'de saklandı. Her parametre öncesi bir örnek çıkarılarak çözdürülmüştür.

3.4. Tiyobarbitürik Asit Reaktif Substans (TBARS) Ölçümü

Lipid peroksidasyonunun bir göstergesi olarak kullanılan TBARS, Cayman marka ticari kit kullanılarak kolorimetrik yöntemle ölçüm ile serumda ve karaciğer dokusunda çalışılmıştır. MDA ve TBA'nın yüksek sıcaklıkta (90-100 °C) reaksiyonu ile MDA-TBA kompleksi oluşur ve asidik ortamda 530 nmde kolorimetrik ölçüm yapılır. Standartlar duplike çalışılmıştır. Standart-absorbans grafiği yapılarak numunelerin TBARS konsantrasyonları hesaplanmıştır. Sonuçlar serumda $\mu\text{M}/\text{mL}$, karaciğer dokusundaki ölçümler $\mu\text{M}/\text{g}$ protein olarak verilmiştir.

3.5. Histopatolojik Analiz Yöntemleri

Nötral formaldehit solüsyonunda, immersiyon fiksasyon yöntemi uygulanarak tespit edilen dokular, çeşme suyu altında bir gece süren yıkama işleminden sonra sırasıyla aşağıdaki işlemlerden geçirildi

A) Dehidratasyon

Dokular dereceli alkollerde aşağıda belirtilen sürelerde bekletildi.

| Alkol derecesi | Süre |
|----------------|--------|
| %50'de | 1 saat |
| %70'te | 1 saat |
| %80'de | 1 saat |
| %90'da | 1 saat |
| %96'da | 1 saat |
| %100'de | 1 gece |

B) Şeffaflaştırma

Ksilolde 5-15 dk

C) Emdirme

Ksilol ve parafinde (60° C etüvde) 15 dakika

Yumuşak parafinde (60 ° C etüvde) 1 saat

Sert parafinde (60C ° etüvde) 4 saat

D) Gömme

Sert parafin kullanılarak dokular bloklandı. Hazırlanan parafin bloklardan kızaklı mikrotom kullanılarak 4 mikron kalınlığında kesitler alındı.

Histolojik değerlendirme için preparatlar hematoksilin-eozin ile (rutin boyama yöntemiyle) boyandı.

3.5.1. Doku Örneklerinin Değerlendirmesi

Hazırlanan parafin bloklardan, Leica tipi kızaklı mikrotom kullanılarak 4–5 mikron kalınlığında kesitler alındı. Histolojik değerlendirme için preparatlar Hematoksilen-Eozin ile boyandı.

Boyanan örnekler Olympus BX50 tipi binoküler mikroskopta incelendi ve fotoğraflar elde edilerek değerlendirildi. Değerlendirmede hasarı belirlemek için Abdel-Wahhab ve ark. yapmış olduğu skorlama sistemi kullanıldı. Elde edilen dokular bağ doku artışı (enflamasyon belirteci), enflamasyon, hemoraji, higroskopik çekirdek (nekroz belirteci), granüler dejenerasyon (apoptoz veya nekroz göstergesi), piknotik çekirdek (apoptozisin son aşamaları), safra kanalı proliferasyonu, nekrotik hücre, apoptozis olmak üzere 9 ana patoloji ele alınarak değerlendirildi. Değerlendirmede her bir preparata yukarıdaki sözü edilen parametreler doğrultusunda (yok, hafif-orta ve şiddetli olmak üzere) sırasıyla 0'dan 3'e kadar puan verildi ve doku hasarı skorlandı.

3.6. İstatistiksel Analiz

Çalışmanın analizi bilgisayar ortamında SPSS 11.0 istatistik programında yapıldı. Analizde; ölçüm verileri aritmetik ortalama \pm standart sapma, gruplar arası farklılaşmanın öneminin tespiti için tek yönlü ANOVA testi kullanıldı. Varyans analizinde anlamlı farklılaşma saptanmışsa *post hoc* Tukey testi ile ikili karşılaştırmalar yapıldı.

Deney grupları arasındaki histopatolojik skorların farklılığını değerlendirmek için Kruskal–Wallis varyans analizi kullanıldı. Kruskal-Wallis testi önemli farklılaşma gösterirse, hangi grubun diğerinden farklı olduğu Mann-Whitney *u* testi ile araştırıldı. Önemlilik düzeyi $P < 0.05$ kabul edildi.

4. BULGULAR

Araştırmamız; Grup 1 (n=10), grup 2 (n=10), grup 3 (n=8), grup 4 (n=8) olmak üzere dört gruba ayrılan, 36 rat ile tamamlandı.

Çalışmaya dahil edilen dört grup rattan deney sonunda (aorttan) kan alındı. Alınan kanlardan hazırlanan hemolizatlarda karaciğer enzimleri, antioksidan enzim düzeyleri çalışıldı. Ayrıca ratların karaciğer dokularından hazırlanmış homojenatlardan antioksidan enzim düzeyleri çalışıldı. Karaciğer sol lobları da histolojik inceleme için ayrıldı.

AST ve ALT düzeylerine bakıldığında parasetamol+ nar suyu verilen grupta yükseklik saptandı. p değerlerine göre yükseklik istatistiksel olarak anlamlıydı.

T.Bilirubin, D.Bilirubin ve GGT değerlerinde istatistiksel olarak anlamlı bir fark yoktu.

ALP değerleri değerlendirildiğinde, kontrol grubunda, parasetamol ve parasetamol+nar suyu gruplarına göre istatistiksel olarak anlamlı yükseklik mevcuttu. Nar suyu grubuna göre ise ALP değerlerinde istatistiksel olarak anlamlı bir fark yoktu (Tablo 2)

Tablo 2. Grupların AST, ALT, T.Bilirubin, D.Bilirubin, GGT, ALP düzeyleri ve p değerleri

| | Grup1 (Parasetamol) | Grup2 (Parasetamol+nar suyu) | Grup3 (Nar suyu) | Grup4 (Kontrol) |
|----------------|------------------------|---------------------------------|---------------------|--------------------|
| AST U/L | 135,444±29,155 | 258,125±107,967 | 126,250±11,461 | 109,125±16,788 |
| ALT U/L | 81,444±38,562 | 132,875±71,238 | 48,750±10,898 | 57,500±11,199 |
| T.Bil mg/dL | 0,984 ± 0,546 | 0,137 ± 0,514 | 0,105 ± 0,040 | 0,122 ± 0,027 |
| D.Bil mg/dL | 0,017 ± 0,010 | 0,456 ± 0,060 | 0,163 ± 0,009 | 0,188 ± 0,009 |
| GGT U/L | 5,80 ± 0,632 | 5,77 ± 0,833 | 5,50 ± 0,755 | 5,50 ± 0,534 |
| ALP U/L | 157,100 ± 40,961 | 143,111 ± 40,566 | 177,857 ± 47,966 | 217,875 ± 71,915 |

*Anova testi

| P değerleri | AST | ALT | T.Bil | D.Bil | GGT | ALP |
|-------------|-------|-------|-------|-------|-------|-------|
| 1-2 | 0,000 | 0,016 | 0,086 | 0,059 | 0,945 | 0,556 |
| 1-3 | 0,738 | 0,113 | 0,767 | 0,961 | 0,373 | 0,416 |
| 1-4 | 0,342 | 0,246 | 0,282 | 0,908 | 0,373 | 0,018 |
| 2-3 | 0,000 | 0,000 | 0,161 | 0,066 | 0,420 | 0,187 |
| 2-4 | 0,000 | 0,001 | 0,512 | 0,092 | 0,420 | 0,005 |
| 3-4 | 0,546 | 0,674 | 0,445 | 0,876 | 1,000 | 0,141 |

Kan ve dokuda lipid peroksidasyonunu gösteren TBARS düzeylerinin ortalama değerleri parasetamol grubunda, parasetamol+nar suyu, nar suyu ve kontrol gruplarına göre daha yüksekti. Bu yükseklik istatistiksel olarak da anlamlıydı (p=0.003, p=0.001, p= 0.000). Parasetamol+nar suyu grubundaki TBARS düzeylerinde kontrol grubunun düzeylerine kıyasla istatistiksel olarak anlamlı bir fark saptanmadı (Tablo 3).

Tablo 3. Grupların kan, doku TBARS düzeyleri ve p değerleri

| | Grup1 (Parasetamol) | Grup2 (Parasetamol+nar suyu) | Grup3 (Nar suyu) | Grup4 (Kontrol) |
|----------------------------|------------------------|---------------------------------|----------------------|----------------------|
| Doku TBARS $\mu\text{M/g}$ | $3,2563 \pm 1,47680$ | $1,8440 \pm 0,97663$ | $1,4725 \pm 0,44979$ | $1,3950 \pm 0,50071$ |
| Kan TBARS $\mu\text{M/mL}$ | $1,6327 \pm 0,2617$ | $1,1219 \pm 0,14736$ | $1,1416 \pm 0,14726$ | $1,0275 \pm 0,29631$ |

*Anova testi

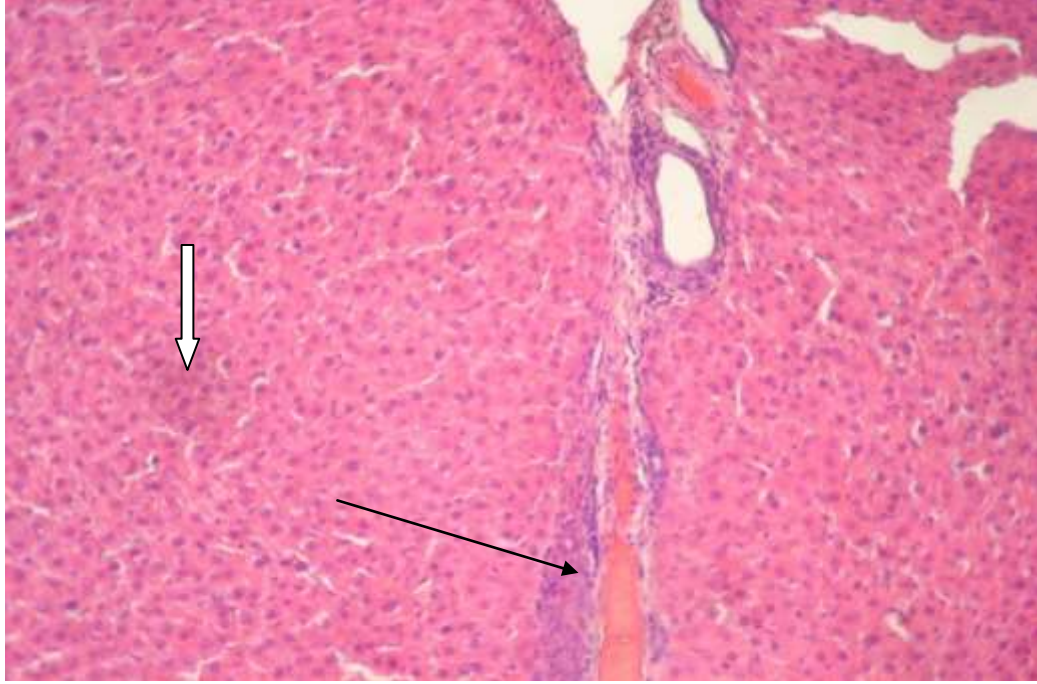
| P değerleri | Doku TBARS | Kan TBARS |
|-------------|------------|-----------|
| 1-2 | 0,003 | 0,000 |
| 1-3 | 0,001 | 0,000 |
| 1-4 | 0,000 | 0,000 |
| 2-3 | 0,435 | 0,857 |
| 2-4 | 0,346 | 0,392 |
| 3-4 | 0,877 | 0,315 |

HİSTOLOJİK BULGULAR

Parasetamol verilen deney grubu ratlarının, karaciğer dokuları incelendiğinde kontrol grubuna göre bağ dokusu artışı, hemoraji, mononükleer hücre infiltrasyonları ve nekroza giden hücreler, piknotik çekirdekli hücreler, hepatositlerde granüler dejenerasyonlar gözlemlendi (Resim 2,3).



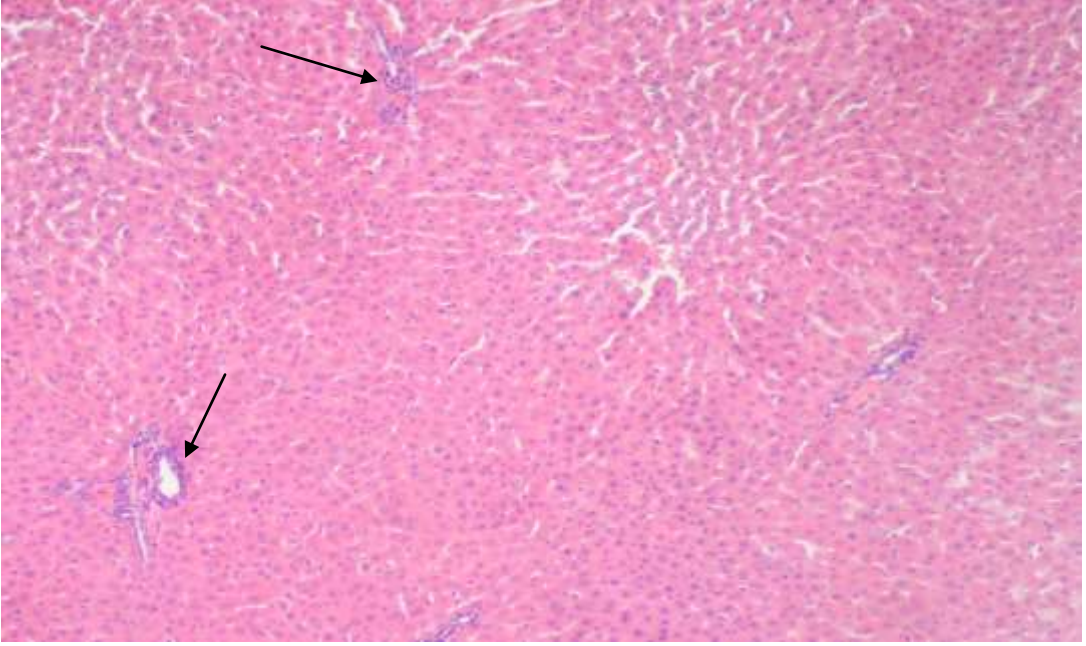
Resim 2. Parasetamol grubuna ait karaciğer kesiti. Bağ dokusu artışı (ince ok), infiltrasyon (kalın ok) (H-E, x10).



Resim 3. Parasetamol grubuna ait karaciğer kesiti. İnfiltrasyon (ok), nekroza giden hücre (kalın ok) (H-E, x20).

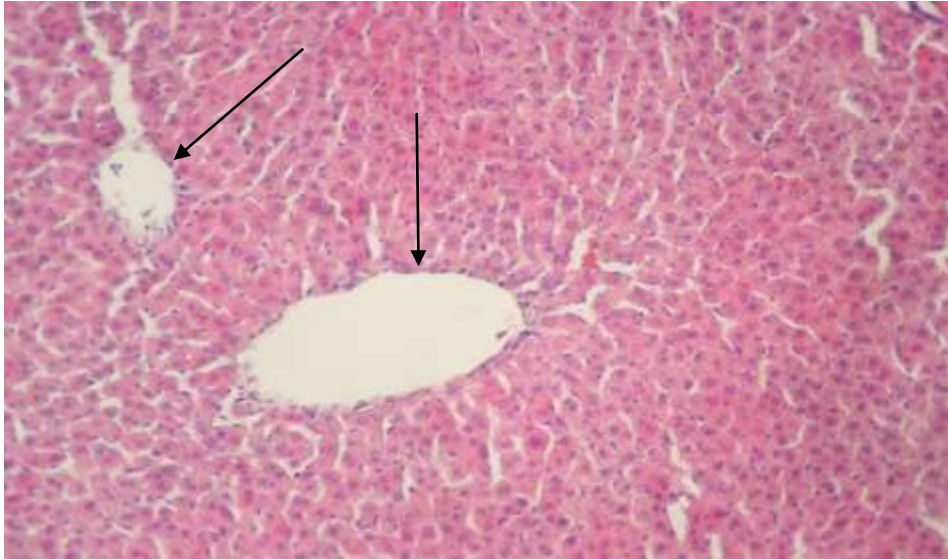
Parasetamol+nar suyu verilen grupta karaciğer histolojik incelemesinde dejeneratif bulgular vardı (Resim 3).

Parasetamol+nar suyu verilen ratların, karaciğer dokuları incelendiğinde kontrol grubuna göre bağ dokusu artışı, hemoraji, mononükleer hücre infiltrasyonları ve nekroza giden hücreler, piknotik çekirdekli hücreler, hepatositlerde granüler dejenerasyonlar gözlemlendi ($p < 0,05$). Parasetamol grubuna göre ise dejeneratif bulgular daha hafifti ve bu fark istatistiksel olarak da anlamlıydı (Tablo 4).

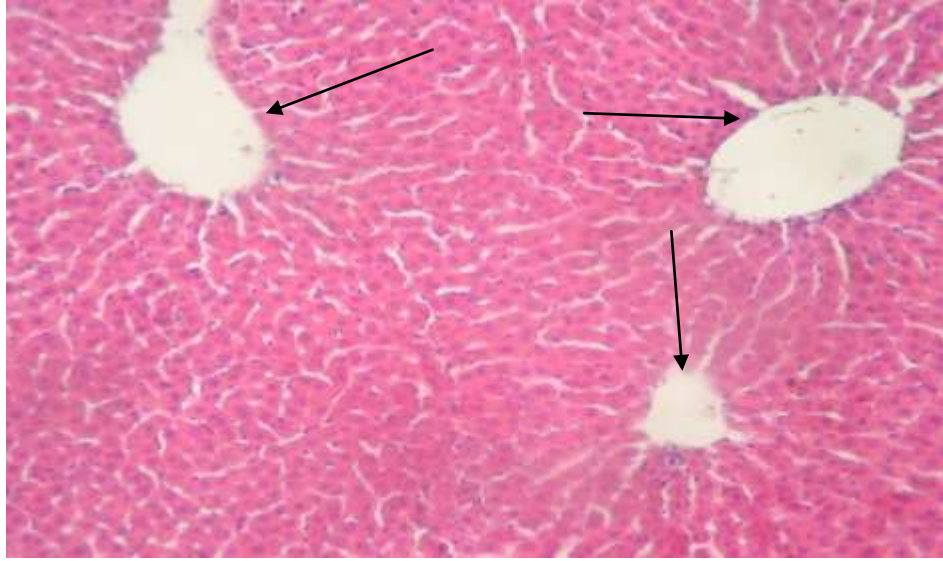


Resim 4. Parasetamol + nar suyu grubuna ait karaciğer kesiti. İnfiltrasyon (ok), (H-E, x10).

Nar suyu ve kontrol grubundaki ratlarda karaciğer doku kesitlerinin histolojik incelenmesinde, normal histolojik yapılar dışında herhangi bir bulguya rastlanmadı. (Resim 5,6)



Resim 5. Nar suyu grubuna ait karaciğer kesiti. Santral ven (ok), (H-E, x20).



Resim 6. Kontrol grubuna ait karaciğer kesiti. Santral ven (ok), (H-E, x20).

Tablo 4. Deneysel parametrelerin histolojik (yapısal) değerlendirme skorları ve p değerleri

| | Grup 1 (Parasetamol) | Grup 2 (Parasetamol+nar suyu) | Grup 3 (Nar suyu) | Grup 4 (Kontrol) |
|------------------------|-------------------------|----------------------------------|----------------------|---------------------|
| Bağ dokusu artışı | ++ | + | - | - |
| Granüler dejerasyon | +++ | + | - | - |
| Hücre İnfiltrasyonu | +++ | + | - | - |
| Nekrotik Hücre | ++ | + | - | - |
| Vasküler Konjesyon | +++ | + | - | - |

P değerleri Bağ dokusu A. Granüler Dej. Hücre İnf. Nekrotik H. Vasküler K.

1-2 **P<0.05** **P<0.05** **P<0.05** **P<0.05** **P<0.05**

1-3 **P<0.05** **P<0.05** **P<0.05** **P<0.05** **P<0.05**

1-4 **P<0.05** **P<0.05** **P<0.05** **P<0.05** **P<0.05**

2-3 **P<0.05** **P<0.05** **P<0.05** **P<0.05** **P<0.05**

2-4 **P<0.05** **P<0.05** **P<0.05** **P<0.05** **P<0.05**

3-4 P>0.05 P>0.05 P>0.05 P>0.05 P>0.05

*Mann-Whitney U testi

5. TARTIŞMA

Çocuk polikliniklerine başvuru nedenleri içinde en sık karşılaşılan sorunlardan biri ateştir. Çocuklarda her zaman olmasa bile tedavinin yönetimi esnasında ateşin düşürülmesi bazen öncelikli hedefler arasında yer alabilir.

Çocuklarda bu amaçla tüm dünyada siklooksijenaz inhibitörleri kullanılmaktadır. Salisilik asit ve nonsteroid antiinflamatuvar (NSAI) ilaçlar hem santral hem periferel olarak prostaglandin (PG) sentezini inhibe ederken parasetamol esas olarak merkezi etkilidir. Salisilat ve NSAI ilaçlar hem periferel hem merkezi olarak PG ve tromboksan sentez inhibisyonu yaptıklarından analjezik-antipiretik etki yanında antiinflamatuvar etkiye de sahiptir. Hâlbuki parasetamol etkisi esas olarak santral olduğundan analjezik-antipiretik etki olmasına rağmen antiinflamatuvar etkileri daha sınırlıdır (101-103).

Aspirin olası yan etkileri nedeniyle artık daha az kullanılan bir ajandır. Genellikle parasetamol ilk seçenek olarak verilmektedir. Parasetamolün ateş düşürücü etkisi beyinde prostoglandin sentezinin inhibisyonu ile gerçekleşir, 10-15 mg/kg, 4-6 saat arayla uygulanır (101-103).

Çocukların toplam nüfusun %30-35'ini oluşturduğu ülkemiz, Avrupa'nın en kalabalık çocuk nüfusuna sahiptir. Tıp dünyasında, hem koruyucu, hem de tedavi edici alandaki büyük gelişmeler sonucunda, çocuk ölüm nedenlerinin sıralaması değişmiştir. Gelişmiş ülkelerde 1-4 yaş arasındaki çocuk ölümlerinde, kazalar başta gelen nedenleri oluştururken, gelişmekte olan ülkelerde 1-4 yaş arası ölümlerden gastroenteritler ve solunum yolları enfeksiyonları yüksek oranda sorumludur. Ülkemizde zehirlenmeler ve bunlara bağlı ölümler daha düşük bir oranda karşımıza çıkmakta, ancak sıklığı giderek artmaktadır (3,77,104). Yapılan araştırmalarda, travmalardan sonra ikinci sırada yer alan çocukluk çağı kazalarının zehirlenmeler olduğu tespit edilmiştir (105,106).

Çocukluk çağında (0-18 yaş) görülen zehirlenmelerin etiyolojisi yaşlara ve kısmen de cinsiyete bağlı olarak değişmektedir. Bilindiği üzere erken çocukluk döneminde, özellikle ilk 5-6 yılda genellikle çocuğun toksik maddeye merak, araştırma içgüdüleriyle ulaşması ve ağzına götürmesi neticesinde zehirlenme

olmaktadır. Türkiye'nin değişik bölgelerinde son 10 yılda yapılan çalışmalarda ilaçlar zehirlenme etkeni olarak ilk sırada yer almıştır (107-112). İngiltere ve Amerika'da 1997 yılında çoğunluğu çocukların oluşturduğu 52.000 kişi üzerinde yapılan bir çalışmada en sık parasetamol zehirlenmesi olduğu belirtilmiştir.

Ülkemizde yapılan bazı çalışmalarda da ilaç zehirlenmelerinde en sık etkenin parasetamol olduğu rapor edilmektedir (113-115). Biz bu çalışmada, çocukluk çağında yaygın kullanımı nedeniyle, parasetamole bağlı karaciğer toksisitesinde nar suyunun koruyucu etkisinin olup olmadığını araştırdık. Literatür bilgimize göre alışmamız nar suyuyla parasetamolün oluşturduğu toksisite alanında yapılan ilk çalışmadır.

Bazı kültürlerde yüzyıllardan beri kullanılan şifalı bitkiler veya kombinasyonları günümüz modern tıbbında da geniş yer bulmaktadır. Sık kullanılan bir ilaç olan parasetamol ve metaboliti asetaminofenin toksisitesine çeşitli bitkilerin etkileri birçok araştırmaya konu olmuştur.

Lynn ve ark. farelerde asetaminofenle elde edilen karaciğer hasarında ağaç minelerinden elde edilen lantadine A adlı maddenin olumlu etkisi olduğunu saptamış ve bu etkileri bitkinin potansiyel antioksidan etkisine bağlamışlardır (18). Nithianantham ve ark. süs bitkisi olarak kullanılan halk arasında da şifalı bitki olarak kullanılan **Clitoria ternatea** bitkisinin yapraklarından elde edilen özütün, farelerde parasetamolle oluşturulan deneysel karaciğer hasarında koruyucu etkisi olduğunu saptamışlardır (19). Coll ve ark. karahindiba (*Taraxacum officinale*) bitkisinin farelerde, asetaminofenle oluşturulan karaciğer hasarında histopatolojik hasarı azalttığını saptamış ve bitkinin antioksidan potansiyelini TBARS metoduyla tespit etmişlerdir (20). Rajesh ve ark. *Clausena dentata* (Willd.) bitkisinin sıçanlardaki parasetamol ile oluşan hepatoselüler hasara karşı koruyucu etkilerinin olduğunu saptamışlardır (21). Jain ve arkadaşları, *Phyllanthus acidus* bitkisinin Wistar-Albino sıçanlarda tiyoasetamid ve asetaminofenle oluşturulan karaciğer hasarında koruyucu etkisi olduğunu saptamışlardır (22). Nwanna ve ark. yivli kabak olarak da bilinen *Telfairia occidentalis* bitkisinin yapraklarından elde edilen özütün, sıçanlarda acetaminofenle oluşturulan karaciğer hasarında koruyucu etkisi olduğunu tespit etmişlerdir (23).

Ancak bu çalışmalarda, karaciğer hasarlanmasını önlemek amacıyla kullanılan tüm bitkisel maddelerin gereç ve yöntem zorlukları olduğu gibi kullanımları da pratik değildir. Nar suyu, ise yaygın bulunan, ucuz bir meyveden kolayca elde edilmesi, tat ve renk açısından çocuk hasta grubunun tüketimine uygun olması gibi tercih sebepleriyle öne çıkmaktadır.

Nar (*Punica granatum*), kınagiller (Lythraceae) familyasından, içinde küçük çekirdekler ve meyve gövdesini oluşturan yüzlerce tanecikten oluşmuş, hafif ekşi ve bazen tatlı tadı olan, ılıman iklimlerde yetişen, bir tropik-subtropik meyve türüdür. Türkiye'de pek çok yerde yetiştirilen narın suyu içecek olarak da günden güne popülerleşmektedir.

Bitkinin bugüne kadar çeşitli parçalarından elde edilen öz ve içeriklerle yapılan çalışmalarla antidiyareik (24), antifungal (25), antiülser (26), antitümöral (27) ve antibakteriyal (28) etkileri kaydedilmiştir. Coursodon ve ark.'ın ratlarda yaptığı çalışmada nar tohumu yağının nekrotizan enterokolitte koruyucu etkisi olduğu ispatlanmıştır (96). Nar suyunun hiperkolesterolemik farelerde, ateroskleroza yatkın bölgelerin, endotelial hücre kültürlerinde oksidasyona duyarlı genlerin ekspresyonunda rol aldığı gösterilmiştir (97). Nar suyunda bulunan flavonoidlerin düşük dansiteli lipoproteinlerin (LDL) oksidasyonunu engelleyerek ateroskleroza karşı koruyucu etkisinin olduğu gösterilmiştir (98). Nardaki tanen adlı maddenin anti proliferatif ve proapoptotik etkileri gösterilmiştir (99).

Ayrıca nar, potansiyel antioksidan etkisinden dolayı giderek önem kazanmaktadır. Nar suyundan bazı etkili antioksidan maddeler izole edilmiş, oksidatif strese karşı etkisi kanıtlanmıştır (29,30). Meyvenin tanelerinin, kabuğunun, tohumunun ve tohumundan elde edilen yağında antioksidan aktivitesi olduğu saptanmıştır (33,116-119). Nar suyunun ve nar ekstraktlarının antioksidan aktivitesi meyvenin içerdiği elaiik asit ve elaitanin gibi polifenollere bağlanmaktadır (99). Gil ve ark. nar suyunda 1800–2100 mg/L polifenol olduğunu raporlamışlardır (116). Punikalein ise nar suyunun antioksidan aktivitesinden sorumlu majör elaitanindir (30,99).

Pirinçcioğlu ve ark.'ın çalışmasında, CCl₄ ile oluşturulan toksisitede nar suyu verilen grupta transaminaz düzeylerinin daha düşük olduğu saptanmıştır (31). Kaur

ve ark.'ın çalışmasında, nar çiçeği ekstresinin ferrik nitrilotriasetat (Fe NTA) ile oluşturulan deneysel karaciğer hasarını önlediği saptanmıştır.

Çelik ve ark.'ın yaptığı bir çalışmada trikloroasetikasite (TCA) maruz kalan ratlarda, AST ve ALT düzeylerinin narçiçeği infüzyonu ile birlikte TCA verilen ratlara göre istatistiksel olarak anlamlı yüksek olduğu saptanmış fakat ALP düzeylerinde fark saptanmamıştır (34).

Nirwane ve Patil'in çalışmasında doksorobisin verilerek hepatoksisite oluşturulan ratlarda nardan elde edilen antisiyonidin ve nar suyu verilmesi AST, ALT, T.Bil ve ALP düzeylerinde istatistiksel olarak anlamlı azalma sağlamıştır (32).

Bizim çalışmamızda literatürden farklı olarak AST ve ALT değerleri en yüksek parasetamol ve nar suyunun bir arada verildiği grupta saptanmış, T.Bil, ve GGT değerlerinde gruplar arasında anlamlı bir fark bulunmamıştır. Sadece nar suyu verilen ya da sadece parasetamol verilen grupta diğer gruplara kıyasla anlamlı bir fark saptanmamıştır. Ayrıca çalışmamızda ALP değerleri arasında en yüksek değerler kontrol grubunda idi, bu yükseklik parasetamol, parasetamol+ nar suyu gruplarına göre istatistiksel olarak anlamlı olmakla beraber, nar suyu grubuna göre ALP değerlerindeki yükseklik istatistiksel olarak anlamlı değildi.

Pirinççioğlu ve ark.'ın yaptığı çalışmada CCl₄ ile indüklenen oksidatif strese karşı nar suyunun koruyucu etkilerine bakılmış, CCl₄ ile birlikte nar suyu verilen grupta, sadece CCl₄ alan gruba göre TBARS metoduyla ölçülen lipid peroksidasyon ürünlerinde istatistiksel olarak anlamlı düşüklük saptanmıştır (31). Rosenblat ve ark.'ın diyabetik hastalar üzerinde yaptıkları bir çalışmada, diyabetik hasta grubunda, kontrol grubuna göre TBARS metoduyla bakılan lipid peroksidasyon düzeylerinde anlamlı yükseklik saptanmış ve 3 ay boyunca günde 50 mL nar suyu içirilen diyabet grubunda TBARS düzeylerinde anlamlı düşüş saptanmıştır (99), Faria ve ark.'ın (29) yaptıkları çalışmada 2 gruba ayrılan farelerin bir kısmına nar suyu bir kısmına su verilmiş, fakat hepatotoksiste oluşturmak için gruplara herhangi bir toksik ajan verilmemiştir, sonuç olarak nar suyunun hepatik oksidatif strese karşı koruyucu olduğu saptanmıştır.

Bizim çalışmamızda parasetamol ile deneysel toksiste oluşturularak gruplardaki oksidatif durum, lipid peroksidasyonunun ölçümünü sağlayan TBARS

metoduyla değerlendirildi. Parasetamol grubunda karaciğer dokusu ve kandaki TBARS düzeyleri, diğer gruplara göre anlamlı olarak yüksekti, parasetamol+nar suyu grubunda ise TBARS düzeyleri parasetamol grubuna göre anlamlı ölçüde düşüktü. Kontrol ve nar suyu gruplarına göre ise istatistiksel olarak anlamlı bir fark yoktu. Çalışmamız nar suyunun oksidatif strese karşı koruyucu olabileceğini göstermektedir.

Pirinçcioğlu ve ark.'ın yaptığı çalışmada kontrol grubunda normal histopatolojik bulgular izlenirken, CCL4 verilen grupta, vakuolizasyon, yağlı dejenerasyon, sentriobuler bölgede belirgin hepatosit hasarı ve dejenerasyon izlenmiştir. Nar suyu ve CCL4 verilen grupta ise hafif yağlı değişiklikler ve kontrol grubuna yakın düzeyde az hepatosit nekrozu izlenmiştir (31).

Kaur ve ark.'ın yaptığı çalışmada Fe-NTA verilen grupta histopatolojik olarak hepatosit yapısında bozulma, yağlı dejenerasyon, nekroz ve hemorojiye rastlanırken, nar çiçeği ekstresi ile tedavi sonrası Fe-NTA verilen grupta normale yakın bulgulara rastlanmıştır (33).

Çayır ve ark.'ın ratlarda kemoterapi ile indüklenen akut nefrotoksisite ve hepatotoksisite çalışmasında nar tohumu ekstresinin kemoterapi verilen grupta histopatolojik olarak düzelme sağladığı tespit edilmiştir (121).

Nirwane ve Patil'in çalışmasında doksorobisin verilerek hepatoksisite oluşturulan ratlarda nardan elde edilen antisionidin ve nar suyu verilmesi antioksidan aktivitede artış, karaciğer enzimlerinde belirgin düşüşün yanı sıra histopatolojik bulgularda da belirgin düzelmeyi sağlamıştır (32).

Chidambara ve ark.'ın çalışmasında CCL4 verilen ratlarda hepatosit yapısında bozukluk, hemoroji ve nekroz izlenirken, öncesinde nar kabuğu ekstresi sonra CCL4 verilen ratlarda normale yakın hepatosit yapısı gözlenmiştir (122).

Bizim çalışmamızda da literatüre benzer şekilde, parasetamol verilen deney grubu ratlarının, karaciğer dokuları incelendiğinde kontrol grubuna göre bağ dokusu artışı, hemoraji, mononükleer hücre infiltrasyonları ve nekroza giden hücreler, piknotik çekirdekli hücreler, hepatositlerde granüler dejenerasyonlar gözlemlendi. Parasetamol+ nar suyu verilen deney grubu ratlarının karaciğer dokuları incelendiğinde de kontrol grubuna göre bağ dokusu artışı, hemoraji, mononükleer

hücre infiltrasyonları ve nekroza giden hücreler, piknotik çekirdekli hücreler, hepatositlerde granüler dejenerasyonlar gözlemlendi. Parasetamol grubuna göre ise dejeneratif bulgular daha hafifti. Bu fark istatistiksel olarak da anlamlıydı.

Parasetamol pediatrik yaş grubunda analjezik- antipiretik etkileri ve diğer analjeziklere oranla nispeten daha az toksik olması nedeniyle sıklıkla kullanılmaktadır. Yaygın kullanımı, şurup formlarının tatlarının güzel olması, yaş grubunun doğasından kaynaklanan merak, hareketlilik ve öğrenme içgüdüleri nedeniyle parasetamol zehirlenmelerine sıkça rastlanmaktadır.

Özellikle kış aylarında çocuk yaş grubunda enfeksiyonlar sık gözlenmekte buna bağlı parasetamol kullanımı artmaktadır. İlaç yan etkisini azaltmada ve önlemede kullanılacak metotların da organizmaya zarar vermeden bu işlevi yerine getirmesi çok önemlidir. Çalışmamızın sonuçlarına bakıldığında zaman transaminaz düzeyleri desteklemese de histolojik olarak nar suyunun parasetamole karşı koruyucu etkileri olduğu gösterilmektedir. Biyokimyasal ve histolojik korelasyonun olmamasını izah edemedik bu konuda daha fazla çalışmaya ihtiyaç duyulmaktadır.

Antioksidan maddeler, aktif oksijen oluşumunu engelleyerek ya da oluşan aktif oksijenleri tutarak, oksidasyonun teşvik etmiş olduğu zararlanmaları hücresel bazda engellemekte dejeneratif hastalıkların oluşumunu durdurmaktadır. Çalışmamızda nar suyunun lipid peroksidasyonu üzerine olumlu etkisi olduğunu saptadık, bu nedenle hepatotoksisteye karşı koruyucu etkisinin yanı sıra antioksidan etkilerinin de yararlarının göz ardı edilmemesi gerektiğini düşünmekteyiz.

Sonuç olarak nar suyunun parasetamole bağlı akut karaciğer hasarını önlemede etkin olduğunu gösteren çalışmamız, bu konuda yapılan ilk deneysel çalışma olması ile literatüre katkı sağlamaktadır.

SONUÇLAR

1-AST ve ALT değerleri parasetamol ve nar suyunun birlikte verildiği grupta diğer gruplara kıyasla anlamlı olarak yüksektir.

2-T.Bil. ve GGT değerlerinde gruplar arası fark saptanmamıştır.

3-Kan TBARS düzeylerinde, parasetamol grubunda diğer gruplara kıyasla anlamlı yükseklik saptanmıştır.

4- Doku TBARS düzeylerinde, parasetamol grubunda diğer gruplara kıyasla anlamlı yükseklik saptanmıştır.

5-Parasetamol grubunun karaciğer dokularında kontrol grubuna göre bağ dokusu artışı, hemoraji, mononükleer hücre infiltrasyonları ve nekroza giden hücreler, piknotik çekirdekli hücreler, hepatositlerde granüler dejenerasyonlar gözlemlendi.

6-Parasetamol+ nar suyu grubunun karaciğer dokularında kontrol grubuna göre bağ dokusu artışı, hemoraji, mononükleer hücre infiltrasyonları ve nekroza giden hücreler, piknotik çekirdekli hücreler, hepatositlerde granüler dejenerasyonlar gözlemlendi. Parasetamol grubuna göre ise dejenaratif bulgular daha hafifti. Bu fark istatistiksel olarak da anlamlıydı.

7- Biyokimyasal ve histolojik korelasyonun olmamasını izah edemedik bu konuda daha fazla çalışmaya ihtiyaç duyulmaktadır.

ÖZET

Ratlarda Parasetamole Bağlı Akut Karaciğer Toksisitesinde Nar Suyunun Histopatolojik ve Antioksidan Etkileri

Çalışmamızda, ülkemizde yaygın olarak bulunan bir bitki olan narın , klinik kullanımını yaygın ve toksisitesine sık rastlanan bir ilaç olan parasetamolün olumsuz etkilerini azaltmadaki etkinliğini ve antioksidan rolünü araştırmayı amaçladık. Wistar-Albino ratlar; 1)parasetamol, 2) parasetamol+nar suyu, 3)nar suyu ve 4) kontrol olmak üzere dört gruba ayrıldı. 2 ve 3. gruba 1,5 cc/gün nar suyu 8 gün gavajla verildi. 1 ve 4. gruba 1,5 cc distile su verildi. Sekizinci gün 1 ve 2. gruba 3000 mg/kg oral parasetamol uygulandı, 9. gün kan örnekleri ve karaciğer dokuları alındı. Kan ve dokuda oksidatif stresin değerini ölçmek amacıyla TBARS çalışıldı.

AST ve ALT değerleri en yüksek parasetamol ve nar suyunun bir arada verildiği grupta saptandı. Sadece nar suyu verilen ya da sadece parasetamol verilen grupta diğer gruplara kıyasla anlamlı bir fark saptanmadı. Doku ve kanda TBARS değerlerinin parasetamol grubunda diğer gruplara göre belirgin şekilde yüksek olduğunu, parasetamol + nar suyu grubunda ise nar suyu ve kontrol grubuyla kıyaslandığında anlamlı fark göstermediğini saptadık. Histolojik değerlendirmede parasetamol ve parasetamol+nar suyu grubunda yapısal değişiklikler tespit edildi. Yapısal değişiklik skoru parasetamol+nar suyu grubunda, parasetamol grubundan istatistiksel olarak anlamlı düşüktü. Parasetamol ve metaboliti asetaminofene bağlı karaciğer hasarının önlenmesinde çeşitli bitkisel ajanların etkinliği bazı çalışmalarla kanıtlanmakla beraber bu çalışmalarda, kullanılan bitkisel maddelerin gereç ve yöntem zorlukları olduğu gibi kullanımları da pratik değildir. Nar suyu, ise yaygın ucuz, tat ve renk açısından çocuk hasta grubunun tüketimine uygun olması gibi tercih sebepleriyle öne çıkmaktadır. Sonuç olarak nar suyunun parasetamole bağlı akut karaciğer hasarını göstermede etkin olabileceğini gösteren çalışmamız, bu konuda yapılan ilk deneysel çalışma olduğundan literatüre katkı sağlamaktadır.

Anahtar Kelimeler: Karaciğer toksisitesi, parasetamol, nar suyu

ABSTRACT

Protective Effect of Punica Granatum Juice in Acute Hepatotoxicity Induced by Paracetamol

We investigate the role of pomegranate juice, as a protective agent, against the acute hepatotoxicity induced by paracetamol. Wistar-Albino rats divided into four groups as: 1) paracetamol, 2) paracetamol+ punica granatum juice, 3) punica granatum juice and, 4) control. 1.5 cc/day punica granatum juice given orally to the 2nd and 3rd group and 1.5 cc/day distilled water has given to group 1 and 4 for seven days. At the day 8, 3000 mg/kg paracetamol administered orally to group 1 and 2. Rats sacrificed at 9th day, blood and liver tissue samples are taken. Blood and liver tissue levels of TBARS (as an oxidative marker) measured and, liver tissue is evaluated histologically.

The highest AST and ALT levels were at the paracetamol+ punica granatum juice group. There were not any significant difference between, punica granatum group and the control group compared to the other groups. Liver tissue and blood TBARS levels were significantly higher at paracetamol group compared to others. There were not any statically significant difference between paracetamol+ pomegranate group and pomegranate, and control groups. There were structural changes at paracetamol and paracetamol+ pomegranete groups but structural change scores were significantly lower at paracetamol+ pomegranate group. Pomegranate juice is widely available, inexpensive, easily obtained from a fruit, taste and color of the fruit is suitable for consumption of pediatric patients. Our study, considering histological evaluation and oxidation parameters demonstrates that pomegranate juice may prevent paracetamol induced acute liver damage. To our knowledge, this is the first experimental study on this issue which is also contributions to the literature.

Key words: Hepatotoxicity, paracetamol, pomegranate juice

KAYNAKLAR

1. Paracelsus and the Medikal Revolution of the Renaissance a 500th. Anniversary Celebration, U.S. National Library of Medicine, Debus AG. 1998:8600 ,
2. Subrosa contributors (2003): www.subrosa.com.tr/internet/alcimizm/alcimizm.htm 37k.Paracelsus
3. Arslankoylu AE, Hallıoğlu O, Okuyaz C, Kuyucu S, Yılgor E. Çocukluk Çağı Zehirlenmeleri. İki Yıllık Retrospektif İzlem. MEU Tıp Fak Dergisi 2005; 6:119–124.
4. Kahveci M, Celtik C, Karasalihoğlu S, Acunaş B. Bir Üniversite Hastanesi Acil Servisine Başvuran Çocukluk Çağı Zehirlenmelerin Değerlendirilmesi. Trakya Üniversitesi Tıp Fakültesi dergisi 2004; 13:19–21.
5. Dokmeci İ. Toksikoloji. Zehirlenmelerde Tanı ve Tedavi, 4.Baskı, Nobel Tıp Kitapevleri, İstanbul 2005; 975–420–432–2.s. 2–14;37–41;50–74;170–172;317–318.
6. T.C. Sağlık Bakanlığı Refik Saydam Hıfzıssıhha Merkezi Başkanlığı Hıfzıssıhha Mektebi Mudurluğu. Birinci Basamağa Yonelik Zehirlenmeler Tanı ve Tedavi Rehberleri. SahaUygulaması Çalışması 2006; 1–22; 69–73.
7. Ward RM, Bates BA, Benitz WE, Burchfield DJ, Ring JC, Walls RP, Walson PD. Acetaminophen Toxicity in Chldren. Pediatrics 2001; 108:1020–1024.
8. Lai MW, Klein-Schwartz W, Rodgers GC, Abrams JY, Deborah BA, Haber AB, Bronstein AC, Wruk KM. Annual Report of the American Association of Poison Control Centers' National Poisoning and Exposure Database. Clinical Toxicology 2006; 44:803–932.
9. Uzel N. Zehirlenmelere Yaklaşım. Çocuk Dergisi Logos Tıp Yayıncılığı 2002; 2:208–213.
10. Grierson R, Green R, Sitar DS, Tenenbein M. Gastric Lavage for Liquid Poisons. Annalsof Emergency Medicine 2000; 35: 435–439.
11. Dokmenci İ. Farmakoloji Temel Kavramlar. Nobel Tıp Kitabevi. İstanbul, 2000; 153–159,406.
12. Kayaalp SO. Rasyonel Tedavi Yönünden Tıbbi Farmakoloji. Hacettepe-Taş Kitapçılık Ltd.Şti. Ankara 2005; 125–129; 848–850.
13. Dworkin PD. NMS Pediatri. 3. Baskı Nobel Tıp Kitabevi. İstanbul 2000; 53.
14. Hinson JA. Reactive metabolites of Phenacetin and Acetaminophen. Environmental Health Perspectives. University of Melbourne. Australia 1983; 49:71- 79.
15. Potter DW, Hinson JA. Mechanisms of Acetaminophen Oxidation to N-Acetyl-Pbenzoquinone Imine by Horseradish P eroxidase and Cytochrome P -450. The Journal of Biological Chemistry 1987; 262:966–973.
16. Ranganathan S. Sri, Sathiadas MG, Sumanasena S, Fernandopulle M, Lamabadusuriya SP, Fernandopulle BMR. Fulminant hepatic failure and paracetamol overuse with therapeutic intent in febrile children. The İndian Journal of Pediatrics 2006; 10:871–875.
17. Lauterburg BH, Corcoran GB, Mitchell JR. Mechanism of Action of N-Acetylcysteine in the Protection Against the Hepatototoxicity of Acetaminophen in Rats In Vivo. Journal Clin. Invest. 1983; 71: 980–991.

18. Grace-Lynn C, Chen Y, Latha LY, Kanwar JR, Jothy SL, Vijayarathna S, Sasidharan S. Evaluation of the Hepatoprotective Effects of Lantadene A, a Pentacyclic Triterpenoid of Lantana Plants against Acetaminophen-induced Liver Damage. *Molecules*. 2012; 17:13937-13947.
19. Nithianantham K, Shyamala M, Chen Y, Latha LY, Jothy SL, Sasidharan S. Hepatoprotective potential of *Clitoria ternatea* leaf extract against paracetamol induced damage in mice. *Molecules*. 2011 ; 16:10134-10145.
20. Colle D, Arantes LP, Gubert P, da Luz SC, Athayde ML, Teixeira Rocha JB, Soares FA. Antioxidant properties of *Taraxacum officinale* leaf extract are involved in the protective effect against hepatotoxicity induced by acetaminophen in mice. *J Med Food*. 2012 ; 15:549-56.
21. Rajesh SV, Raj Kapoor B, Kumar RS, Raju K. Effect of *Clausena dentata* (Willd.) M. Roem. against paracetamol induced hepatotoxicity in rats. *J Pharm Sci*. 2009; 22:90-3.
22. Jain NK, Singhai AK, Protective effects of *Phyllanthus acidus* (L.) Skeels leaf extracts on acetaminophen and thioacetamide induced hepatic injuries in Wistar rats. *Asian Pac J Trop Med*. 2011; 4:470.
23. Nwanna EE, Oboh G. Antioxidant and hepatoprotective properties of polyphenol extracts from *Telfairia occidentalis* (fluted pumpkin) leaves on acetaminophen induced liver damage. *Pak J Biol Sci*. 2007; 10:2682-7.
24. Das A.K , Mandal S.C., Banerjee S.K., Sinha S., Das J., Saha B.P., Pal P. Studies on anti-diarrhoeal activity of *Punica granatum* seed extract in rats. *J. Ethnopharmacol.*, 1999; 68:205–208.
25. Dutta B.K, Rahman I, Das T.K, Antifungal activity of Indian plant extracts. *Mycoses*, 1998; 41:535–536.
26. Gharzouli K, Khennouf S, Amira S, Gharzouli A, Effects of aqueous extracts from *Quercus ilex* L. root bark, *Punica granatum* L. fruit peel and *Artemisia herba-alba* Asso leaves on ethanol-induced gastric damage in rats. *Phytother. Res.*, 1999; 13:42–45.
27. Afaq, Saleem M, Krueger C.G, Reed J.D and Mukhtar H., Anthocyanin- and hydrolyz tannin-rich pomegranate fruit extract modulates MAPK and NF-kappaB pathways and inhibits skin tumorigenesis in CD-1 mice, *Int. J. Cancer* 2005; 113:423–433.
28. Prashanth D., Asha M.K and Amit A, Antibacterial activity of *Punica granatum*, *Fitoterapia* 72, Evaluation of the bioavailability and metabolism in the rat of punicalagin, an antioxidant polyphenol from pomegranate juice, *Eur. J. Nutr.* 2003; 42:18–28.
29. Faria A, Monteiro R, Mateus N, Azevedo I and Calhau C, Effect of pomegranate (*Punica granatum*) juice intake on hepatic oxidative stress, *European Journal of Nutrition* 2007; 46:271–278.
30. Cerda B, Llorach R, Ceron J.J, Espin J.C, Barberan T, Evaluation of the bioavailability and metabolism in the rat of punicalagin, an antioxidant polyphenol from pomegranate juice. *Eur. J. Nutr.*, 2003; 42:18–28.
31. Pirinçcioğlu M, Kızıl G, Kızıl M, Kanay Z, Ketani A The protective role of pomegranate juice against carbon tetrachloride induced oxidative stress in rats, *Toxicology and Industrial Health* 2013; 10:117.
32. Nirwane A, Patil R, Effect of *Punica granatum* seeds on Doxorubicin-Induced Hepatotoxicity in Wistar Rats, *Journal of Pharmacy Research* 2012; 5:4625-4628.

33. Kaur G, Jabbar Z, Athar M, Alam MS. Punica granatum (pomegranate) flower extract possesses potent antioxidant activity and abrogates Fe-NTA induced hepatotoxicity in mice *Food Chem Toxicol.* 2006 ; 44:984-93.
34. Celik I, Temur A, Isik I. Hepatoprotective role and antioxidant capacity of pomegranate (*Punica granatum*) flowers infusion against trichloroacetic acid-exposed in rats. *Food Chem Toxicol.* 2009 ; 47:145-149
35. Chalasani N. Causes, clinical features, and outcomes from a prospective study of drug-induced liver injury in the United States. *Gastroenterology.* 2008;1924-1934.
36. Batt AM, Ferrari L. Manifestations of chemically induced liver damage. *Clin Chem.* 1995; 41:1882-1887.
37. Bass NM. Drug-Induced Liver Disease. In: Friedman S, McQuaid K, Grendell, eds. *Current Diagnosis and Treatment in Gastroenterology.* 2nd ed. New York, NY: McGraw-Hill Professional. 2003; 10:664-79.
38. Watkins PB, Seeff LB. Drug-induced liver injury: summary of a single topic clinical research conference. *Hepatology.* 2006; 43:618-631.
39. Sgro C, Clinard F, Ouazir K, Chanay H, Allard C, Guilleminet C, et al. Incidence of drug-induced hepatic injuries: a French population-based study. *Hepatology.* 2002; 36:451-455.
40. Lee WM. Acute liver failure in the United States. *Semin Liver Dis.* 2003; 23:217-226.
41. Dienstag JL, Isselbacher KJ. Toxic and Drug-Induced Hepatitis. In: Kasper DL, Braunwald E, Fauci A, Hauser S, Longo D, Jameson JL, eds. *Harrison's Principles of Internal Medicine.* New York, NY: McGraw-Hill Professional; 2003; 12.:296.
42. Lee WM. Drug-induced hepatotoxicity. *N Engl J Med.* 2003; 349:474-485.
43. Ishak KG. Drug-induced liver injury pathology. In: clinical and pathological correlations in liver disease. American Association for the Study of Liver Disease Post Graduate Course. 1998:236.
44. Bolton JS, Bowen JC. Biliary sclerosis associated with hepatic artery infusion of floxuridine. *Surgery.* 1986; 99:119-122.
45. Uetrecht J. Idiosyncratic drug reactions: past, present, and future. *Chem Res Toxicol.* 2008; 21:84-92.
46. Andrade RJ, Lucena MI, Fernandez MC. Drug induced liver injury: an analysis of 461 incidences submitted to the Spanish registry over a 10-year period. *Gastroenterology.* 2005; 129:512-521.
47. De Valle MB, Klinteberg VA, Alem N. Drug induced liver injury in a Swedish University Hospital out-patient hepatology clinic. *Aliment Pharmacol Ther.* 2006; 24:1187-1195.
48. Lee WM. Impact of drug induced liver toxicity on hepatology and practice of medicine. US Food and Drug Administration, Center for Drug Evaluation and Research. 2001; 155-164.
49. Wrighton SA, Stevens JC. The human hepatic cytochromes P450 involved in drug metabolism. *Crit Rev Toxicol.* 1992; 22:1-21.
50. Hunt CM, Westerkam WR, Stave GM. Effect of age and gender on the activity of human hepatic CYP3A. *Biochem Pharmacol.* 1992; 44:275-283.

51. Hunt CM, Westerkam WR, Stave GM, Wilson JA. Hepatic cytochrome P-4503A (CYP3A) activity in the elderly. *Mech Ageing Dev.* 1992; 64:189-199.
52. Monteith DK, Emmerling MR, Garvin J, Theiss JC. Cytotoxicity study of tacrine, structurally and pharmacologically related compounds using rat hepatocytes. *Drug Chem Toxicol.* 1996; 19:71-84.
53. Chalasani N. Statins and hepatotoxicity: focus on patients with fatty liver. *Hepatology.* 2005; 41:690-695.
54. Danan G, Benichou C. Causality assessment of adverse reactions to drugs - I. A novel method based on the conclusions of international consensus meeting. *J Clin Epidemiol* 1993; 46:1323-1330.
55. Mehendale HM. Role of tissue repair in liver injury. In: Kaplowitz N, Delve L, eds. *Drug induced liver injury.* 2nd ed. Philadelphia, PA: Informa Health Care. 2007; 56 :1924-1934.
56. Ostapowicz G, Fontana RJ, Schiodt FV, Larson A, Davern TJ, Han SH, et al. Acute Liver Failure Study Group. Results of a prospective study of acute liver failure at 17 tertiary care centers in the United States. *Ann Intern Med.* 2002; 137:947-954.
57. Poucell S, Ireton J, Mayoral VP, Downar E, Larratt L, Patterson J, et al. Amiodarone-associated phospholipidosis and fibrosis of the liver. Light, immunohistochemical, and electron microscopic studies. *Gastroenterology.* 1984; 86:926-936.
58. Lee WM. Drug-induced hepatotoxicity. *N Engl J Med.* 1995; 333:1118-1127.
59. Chang CC, Petrelli M, Tomaszefski JF, McCullough AJ. Severe intrahepatic cholestasis caused by amiodarone toxicity after withdrawal of the drug: a case report and review of the literature. *Arch Pathol Lab Med.* 1999; 123:251-256.
60. Sherlock S, Dooley J. *Drugs and the Liver.* In: *Diseases of the Liver and Biliary System.* 11th ed. Oxford, England: Blackwell Science. 2002; 5:335-364.
61. McDonald GB, Hinds MS, Fisher LD. Veno-occlusive disease of the liver and multiorgan failure after bone marrow transplantation: a cohort study of 355 patients. *Ann Intern Med.* 1993; 118:255-67.
62. Ludwig J, Kim CH, Wiesner RH, Krom RA. Floxuridine-induced sclerosing cholangitis: and ischemic cholangiopathy? *Hepatology.* 1989; 9:215-218.
63. Gordon DW, Rosenthal G, Hart J, Sirota R, Baker AL. Chaparral ingestion. The broadening spectrum of liver injury caused by herbal medications. *JAMA.* 1995; 273:489-490.
64. Valla D, Le MG, Poynard T, Zucman N, Rueff B, Benhamou JP. Risk of hepatic vein thrombosis in relation to recent use of oral contraceptives. A case-control study. *Gastroenterology.* 1986; 90:807-811.
65. Zafrani ES, von Pinaudeau Y, Dhumeaux D. Drug-induced vascular lesions of the liver. *Arch Intern Med.* 1983; 143:495-502.
66. Edmondson HA, Henderson B, Benton B. Liver-cell adenomas associated with use of oral contraceptives. *N Engl J Med* 1976; 294:470-472.
67. Bernal W, Donaldson N, Wyncoll D, Wendon J. Blood lactate as an early predictor of outcome in paracetamol-induced acute liver failure: a cohort study. *Lancet* 2002; 359:558-563.
68. Bjornsson E, Olsson R. Outcome and prognostic markers in severe drug-induced liver disease. *Hepatology.* 2005; 42:481-489.

69. Farrell GC. Drug-induced hepatic injury. *J Gastroenterol Hepatol* 1997; 12:242-250.
70. Brodie BB, Alexrod J. The fate of acetanilide in man. *J Pharmacol Exp Ther* 1948; 94: 29-39.
71. Clissold SP. Paracetamol and phenacetin. *Drugs* 1986; 4:46.
72. Carlsson KH, Monzel W, Jurna I. Depression by morphine and the non-opioid analgesic agents, metamizol (dipyrone), lysine acetylsalicylate, and paracetamol, of activity in rat thalamus neurones evoked by electrical stimulation of nociceptive Boutaud O, Aronoff DM, Richardson JH, Marnet LJ, Oates JA. Determinants of the cellular specificity of acetaminophen as an inhibitor of prostoglandin H2 synthases. *Proc Natl Acad Sci USA* 2002; 99:7130-7135.
73. Boutaud O, Aronoff DM, Richardson JH, Marnet LJ, Oates JA. Determinants of the cellular specificity of acetaminophen as an inhibitor of prostoglandin H2 synthases. *Proc Natl Acad Sci USA* 2002; 99: 7130-7135.
74. Swierkosz TA, Jordan L, Mc Bride M, McGough K, Devlin J, Botting RM. Actions of paracetamol on cyclooxygenases in tissue and cell homogenates of mouse and rabbit. *Med Sci Monit* 2002; 8: 496-497.
75. Pina LA, Sandrini M, Vitale G. The antinociceptive action of paracetamol is associated with changes in the serotonergic system in the rat brain. *Eur J Pharmacol* 1996; 308: 31-40.
76. Miller RP, Roberts RJ, Fischer LJ. Acetaminophen elimination kinetics in neonates, children, and adults. *Clin Pharmacol Ther* 1976; 19:284-290.
77. Christophersen AB, Levin D, Hoegberg LC, Angelo HR, Kampmann JP. Activated charcoal alone or after gastric lavage: a simulated large paracetamol intoxication. *Br Journal Clin Pharmacol* 2002; 53: 312-317.
78. Lynch RM, Robertson R. Activated charcoal: the untold story. *Accident and Emergency Nursing* 2003; 11: 63-67
79. Spiller HA, Winter ML, Klein-Schwartz W, Bangh SA. Efficacy of activated charcoal administered more than four hours after acetaminophen overdose. *Am J. Emerg Med* 2006; 30:1-5.
80. Bertino JR. Improving the curability of acute leukemia: pharmacologic approaches. *Semin Hematol.* 1991; 28:9-11.
81. Cheeseman KH, Slater TF. An introduction to free radical biochemistry. *Br Med Bull.* 1993; 49:481-93.
82. Mc Cord JM. Human disease, free radicals, and the oxidant/antioxidant balance. *Clin Biochem.* 1993; 26:351-357.
83. Uysal M. Serbest radikaller, lipid peroksidleri organizmada prooksidan-antioksidan dengeyi etkileyen koşullar. *Klinik Gelişim.* 1998; 11:336-341.
84. Williams AT, Burk RF. Carbon tetrachloride hepatotoxicity: an example of free radical-mediated injury. *Semin Liver Dis.* 1990; 10:279-284.
85. Barber DA, Harris SR. Oxygen free radicals and antioxidants: a review. *Am Pharm.* 1994; 34:26-35.
86. Akkuş İ. Serbest radikaller ve fizyopatolojik etkileri. Konya: Mimoza Yayınları; 1995:3-95.

87. Das DK, Maulik N. Antioxidant effectiveness in ischemia-reperfusion tissue injury. *Methods Enzymol.* 1994; 233:601-610
88. Chopineau J, Sommier MF, Sautou V. Evaluation of free radical production in an ischaemia-reperfusion model in the rabbit using a tourniquet. *J Pharm Pharmacol.* 1994; 46:519-520.
89. Slater TF. Free-radical mechanisms in tissue injury. *Biochem J.* 1984; 222:1-15.
90. Valenzuela A. The biological significance of malondialdehyde determination in the assessment of tissue oxidative stress. *Life Sci.* 1991; 48:301-309.
91. Slater TF, Cheeseman KH, Davies MJ, Proudfoot K, Xin W. Free radical mechanisms in relation to tissue injury. *Proc. Nutr. Soc.* 1987; 46:1-12.
92. Stahl W, Sies H. Antioxidant defense: vitamins E and C and carotenoids. *Diabetes.* 1997; 46:14-18.
93. Yalçın AS. Antioksidanlar. *Klinik Gelişim* 1998; 11:342-6.
94. Gonzales R, Auclair C, Voisin E, Gautero H, Dhermy D, Boivin P. Superoxide dismutase, catalase, and glutathione peroxidase in red blood cells from patients with malignant diseases. *Cancer Res.* 1984; 44:4137-4139.
95. Takahashi K, Cohen HJ. Selenium-dependent glutathione peroxidase protein and activity: immunological investigations on cellular and plasma enzymes. *Blood.* 1986; 68:640-5.
96. Coursodon-Boyiddle CF, Snarrenberg CL, Adkins-Rieck CK, Bassaganya-Riera J, Hontecillas R, Lawrence P, Brenna JT, Jouni ZE, Dvorak BA, Pomegranate seed oil reduces intestinal damage in a rat model of necrotizing enterocolitis. *Gastrointest Liver Physiol.* 2012; 303:744-751.
97. Nigris F, De, Williams-Ignarro, S, Lerman L.O, Crimi E, Botti C., Mansueto G, D'Armiento F.P, De Rosa G, Sica V, Ignarro L.J, Napoli C, Beneficial effects of pomegranate juice on oxidationsensitive genes and endothelial nitric oxide synthase activity at sites of perturbed shear stress, *Proc. Natl. Acad. Sci. USA*, 2005; 102:4896–4901
98. Wang R.F,Xie W.D, Zhang Z, Xing D.M, Ding Y, Wang W. Bioactive compounds from the seeds of *Punica granatum*(pomegranate)*J. Nat. Prod.*, 2004; 67:2096–2098
99. Seeram NP, Adams LS, Henning SM, Niu Y, Zhang Y, Nair MG, Heber D, In vitro antiproliferative, apoptotic and antioxidant activities of punicalagin, ellagic acid and a total pomegranate tannin extract are enhanced in combination with other polyphenols as found in pomegranate juice. *J Nutr Biochem* 2005; 16:360–367
100. Lowry OH, Rosebrough NJ, Farr AL, Randall RJ. Protein measurement with the folinphenol reagents. *The Journal of Biological Chemistry.* 1951; 193: 265-275
101. Baker MD: Evaluation and management of infants with fever, *Pediatric Clin North Am* 1999; 46 :1061-1072.
102. Lorin MI: Fever pathogenesis and treatment, “Feigin RD, Cherry JD (eds): *Textbook of Pediatric Infectious Diseases*, 5. Edition, 101-106.
103. Powell KR: Fever, “Behrman RE, Kliegman RM (eds): *Nelson Textbook of Pediatrics*, 17. Edition, 839-841.
104. Arieff AI, Kronlund BA. Fatal Child Abuse by Forced Water Intoxication. *Pediatrics.*1998; 103:1292–1295.

105. Haspolat K, Hasanoğlu A. Çocukluk çağı travmaları. 33. Milli Pediatri Kongresi Tebliğler Kitabı. İstanbul: Türk Pediatri Kurumu Yayınları; 1985,211-222.
106. Yağcı RV, Aydoğdu S, Taneli B. Çocukluk çağı kazalarının acil hasta popülasyonundaki yeri. 36. Milli Pediatri Kongresi Özet Kitabı. Türk Pediatri Kurumu Yayınları; 1994,41.
107. Andıran N, Sarıkayalar F. Pattern of acute poisonings in childhood in Ankara: what has changed in twenty years? *The Turkish Journal of Pediatrics* 2004; 46:147-152.
108. Çam H, Kıray E, Taştan Y, Özkan HÇ. İstanbul Üniversitesi Cerrahpaşa Tıp Fakültesi Çocuk Sağlığı ve Hastalıkları Anabilim Dalı Acil serviste izlenen zehirlenme olguları. *Türk Ped. Arşivi*. 2003; 38:233-239.
109. Akbay Öntürk Y, Uçar B. Eskişehir bölgesinde çocukluk çağı zehirlenmelerinin retrospektif değerlendirilmesi. *Çocuk Sağlığı ve Hastalıkları dergisi*: 2003; 46;103-113.
110. Öner N, İnan M, Vatansver Ü. ve ark. Trakya bölgesinde çocuklarda görülen zehirlenmeler. *Türk Pediatri Arşivi* 2004; 39:25-30.
111. Ağin H, Çalkavur Ş, Olukman Ö, Ural R, Bak M. Çocukluk Çağı Zehirlenmeleri: Son 2 yıldaki olguların değerlendirilmesi. *Türkiye Klinikleri J Pediatr* 2002; 11:186-193.
112. Arapoğlu M, Keskin C, Telhan L ve ark. Şişli Etfal Hastanesi 1. Çocuk Kliniğine Başvuran Zehirlenme Olgularının Değerlendirilmesi. *Şişli Etfal Hastanesi Tıp Bülteni* 2005; 4: 41-45.
113. Andıran N, Sarıkayalar F. İhsan Doğramacı Çocuk Hastanesinde Son Altı Yılda İzlenen Akut Zehirlenmeler. *Katkı Pediatri Dergisi* 2001; 22:396- 407.
114. Biçer S, Sezer S, Çetindağ F, Kesikminare M, Tombulca N, Aydoğan G, Aldemir H, Çocuk acil kliniği 2005 yılı akut zehirlenme olgularının Değerlendirilmesi İstanbul Bakırköy Kadın Doğum ve Çocuk Hastalıkları Eğitim ve Araştırma Hastanesi, Çocuk Acil, İstanbul, *Türkiye, Marmara Med. Journal* 2007; 20:7.
115. İlaç Zehirlenmesi Olan Çocuk Olgularında Demografik Özellikler ve Ailesel etkenlerin Değerlendirilmesi: T.C. Sağlık bakanlığı Haydarpaşa Numune Eğitim ve Araştırma Hastanesi Çocuk Kliniği Klinik Şefi Doç. Dr. Ömer CERAN *Haseki Tıp Bülteni*:2013; 51:157-61.
116. Gil M.I, Tomas-Barberan F.A, Hess-Pierc B., Holcroft D.M, Kader A.A, Antioxidant activity of pomegranate juice and its relationship with phenolic composition and processing, *J. Agric. Food. Chem.*, 2000; 48:4581–4589.
117. Schubert S.Y, Lansky E.P, Neeman I, Antioxidant and eicosanoid enzyme inhibition properties of pomegranate seed oil and fermented juice flavonoids *J Ethnopharmacol.*, 1999;66: 11–17.
118. Noda Y, Kaneyuki T, Mori A, Packer L, Antioxidant activities of pomegranate fruit extract and its anthocyanidins: delphinidin, cyanidin, and pelargonidin *J. Agric. Food Chem.*, 2002; 50: 166–171.
119. Singh R.P, Murthy K.N, Jayaprakasha G.K. Studies on the antioxidant activity of pomegranate (*Punica granatum*) peel and seed extracts using in vitro models *J. Agric. Food Chem.*, 2002; 50:81–86.
120. Rosenblat M, Hayek T, Aviram M. Anti-oxidative effects of pomegranate juice (PJ) consumption by diabetic patients on serum and on macrophages. *Atherosclerosis* 2006; 187: 363–371.

121. Cayır K, Karadeniz A, Simşek N, Yıldırım S, Karakuş E, Kara A, Akkoyun HT, Sengül E. Pomegranate seed extract attenuates chemotherapy-induced acute nephrotoxicity and hepatotoxicity in rats. *J Med Food*. 2010; 10:1089.
122. Chidambara Murthy KN, Jayaprakasha GK, Singh RP, Studies on antioxidant activity of pomegranate (*Punica granatum*) peel extract using in vivo models. *J Agric Food Chem*. 2002; 50:4791-4795.